



annales de l'amélioration des plantes

Bimestriel

1980

Vol. 30 - N° 1

inra

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

A 8 30 (1), 1-112 (1980)

AAP30.1

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

149, rue de Grenelle, 75007 PARIS, Tél. : 551-41-09.

Directeur général : J. POLY

Annales agronomiques.

- L. GACHON, Chef du Département d'Agronomie, 63100 Clermont-Ferrand.
- P. CHARTIER, Chef du Département de Bioclimatologie, C.N.R.A., 78000 Versailles
- J. MAMY, Chef du Département de Science du Sol, C.N.R.A., 78000 Versailles.

Annales de l'Amélioration des Plantes.

- M. RIVES, Chef du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes, I.N.R.A., 11, rue Jean-Nicot 75007 Paris.

Annales de Phytopathologie.

- A. COLÉNO, Chef du Département de Pathologie Végétale, I.N.A., Paris Grignon, 16, rue Claude Bernard, Paris Cedex 75231.

Annales de Zoologie-Écologie animale.

- B. HURPIN, Chef du Département de Recherches de Zoologie, 78280 Guyancourt

Annales de Zootechnie.

- A. RÉRAT Chef du Département de Nutrition C.N.R.Z. 78350 Jouy-en-Josas.

Annales de Technologie agricole.

- P. DUPUY, Chef du Département de Technologie des Produits végétaux, 21034 Dijon Cedex.
- A. GUILBOT, Directeur de la Station de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales et de leurs Dérivés, C.E.R.D.I.A., Le Noyer-Lambert, 91300 Massy.
- B. L. DUMONT, Directeur du Laboratoire de Recherches sur la Viande, C.N.R.Z., 78350 Jouy-en-Josas.
- A. BOURDET, Directeur du Laboratoire de Recherches sur la Qualité des Blés, I.N.R.A., 16, rue N.-Fortin, 75013 Paris.

Annales des Sciences forestières.

- P. BOUVAREL, Inspecteur général de la Recherche agronomique, Chef du Département de Recherches forestières, C.N.R.F., 54280 Seichamps.
- J. PARDE, Directeur de la Station de Sylviculture et de Production. C.N.R.F., 54280 Seichamps.

Annales de Génétique et de Sélection animale.

- P. MÉRAT, Directeur de la Station de Génétique factorielle, C.N.R.Z., 78350 Jouy-en-Josas.
- F. GROSCLAUDE Chef du Département de Génétique animale, C.N.R.Z., 78350 Jouy-en-Josas.

Apidologie (Revue franco-allemande, co-édition I.N.R.A.-Deutscher-Imkerbund).

- J. LOUVEAUX, Directeur de la Station de Recherches sur l'Abeille et les Insectes sociaux, 91440 Bures-sur-Yvette.

Annales de Recherches vétérinaires.

- J. ASSO, Station de Virologie, Immunologie, Route de Tkiverval 78850 Thiverval-Grignon,

Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique.

Ch. THIBAUT

Administration et secrétariat de la Rédaction à l'adresse suivante: Secrétariat des A.B.A.B.B., C.N.R.Z., 78350 JOUY-EN-JOSAS.

ADMINISTRATION ET SECRÉTARIAT DE LA RÉDACTION

Service des Publications de l'I.N.R.A., route de Saint-Cyr, 78000 VERSAILLES, Tél. : 950-75-223



annales de l'amélioration des plantes

Bimestriel

1980

Vol. 30 - N° 1

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Stérilité mâle cytoplasmique chez la Luzerne : étude de la variabilité inter- et intradescendances de croisements entre mâles stériles et mainteneurs de diverses origines

Yvette DATTÉE (*), G. ANNOU (**), G. LEFORT (***), P. GUY (**) et G. GENIER (**)

(*) *E.N.S., Laboratoire de Zoologie,
46, rue d'Ulm, 75230 Paris Cedex 05*

(**) *Station d'Amélioration des Plantes fourragères, I.N.R.A.,
86600 Lusignan*

(***) *Institut National Agronomique, Paris-Grignon
16, rue Claude-Bernard, 75005 Paris*

Résumé

Les descendances des croisements entre 9 clones mâles stériles et 8 clones mainteneurs de diverses origines géographiques ont été analysées pour la fertilité pollinique et la déhiscence des anthères.

La fertilité moyenne de l'ensemble des descendances est faible mais de grandes variations sont observées entre les moyennes des descendances ainsi qu'entre individus frères.

La mesure de la fertilité pollinique a été transformée en $\sqrt[4]{\text{fréquence}}$ de la fréquence du pollen fertile afin de stabiliser les variances intradescendances.

Pour les deux caractères, les origines géographiques expliquent une grande part de la variabilité interdescendances mais les interactions entre les couples de géotypes parentaux sont aussi très élevées.

Les parents mainteneurs transmettent à leurs descendances des caractéristiques de fertilité et de déhiscence étroitement liées.

Bien que les cytoplasmes des diverses origines géographiques soient, à notre connaissance, obtenus indépendamment, aucune exclusion entre un clone mainteneur et un clone mâle stérile n'a été notée. Les mainteneurs semblent donc universels.

Les interactions entre géotypes mâles stériles et mainteneurs et la variabilité intradescendance pourraient être expliquées en supposant qu'en dehors de la nécessité d'un cytoplasme mâle stérile et du gène de maintien pour assurer un niveau moyen de stérilité élevé, un contrôle polygénique modulerait l'expression de cette stérilité en interaction avec le cytoplasme.

Introduction

La stérilité mâle de la Luzerne fait l'objet de nombreuses études aux États-Unis et en Europe. En France, parmi les divers problèmes relatifs à la compréhension des mécanismes et à l'utilisation de la stérilité mâle en sélection, celui de la compatibilité entre mâles stériles et mainteneurs a été plus particulièrement étudié au cours d'une expérience conduite par ANNOU à la Station d'Amélioration des Plantes fourragères de Lusignan en 1977.

Selon BARNES *et al.* (1972) les diverses plantes mâles stériles décrites par DAVIS et GREENBLATT et par PEDERSEN et STUCKER seraient en effet contrôlées par le même système cytoplasmique. STASZEWSKI et JAKUBOWSKA (1976) arrivent à la même conclusion avec du matériel d'origine différente. SINSKA (1976), en revanche, conclut à des différences de comportement entre deux origines mâles stériles vis-à-vis des mainteneurs.

Comme un grand nombre de clones mâles stériles et mainteneurs avaient été réunis à Lusignan, il a été possible d'analyser l'ensemble des descendance afin de rechercher les compatibilités éventuelles et de les relier aux origines géographiques du matériel.

Matériel et techniques

Les mainteneurs proviennent :

- de matériel français d'origine flamande obtenu à Lusignan : A 11, A 11 × F 11 (1), A 11 × F 11 (2) ou obtenu par des sélectionneurs privés : K 5-7, To 53 A₁,

- d'origine germano-hongroise : 1 552,

- d'origine soviétique et isolé à Lusignan : OR 11, OR 215.

Les mâles stériles sont eux aussi issus de diverses provenances :

- cytoplasme américain pour C 21-4, MST 11, MS 49 T, MS 19-5 isolés soit à Lusignan, soit chez des sélectionneurs privés;

- cytoplasme français pour Lu 18 et GIE isolés à Lusignan et à Provins;

- cytoplasme soviétique pour MSR 12 et MSR 21 isolés à Lusignan;

- cytoplasme polonais pour Po 213 isolé à Lusignan.

L'ensemble des croisements entre mâles stériles et mainteneurs a été réalisé à l'exception des trois combinaisons MS 49 T × OR 11, MS 49 T × OR 215, MSR 21 × TO 53 A₁; la fertilité pollinique des descendants a été mesurée par la coloration ALEXANDER (1969) par le pourcentage de grains viables sur un échantillon d'environ 500 grains de pollen pour chaque plante et la déhiscence des anthères a été notée : 1. plante indéhiscence, 2. plante peu déhiscence, 3. plante déhiscence de type normal.

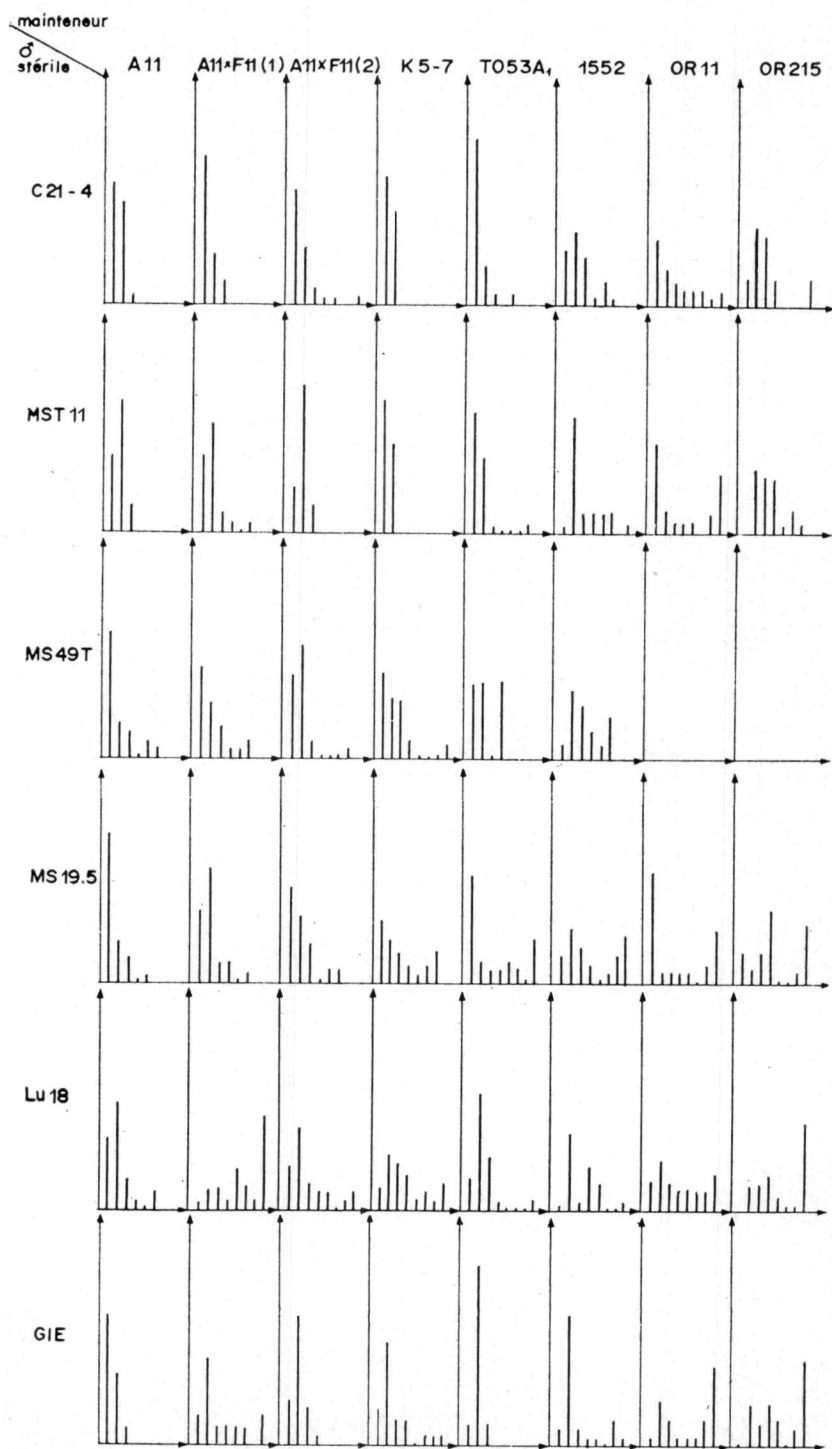
Toutes les expériences ont été conduites sur des plantes en serre, à Lusignan (ANNOU, 1977). Sur le tableau 1 se trouve porté le nombre d'individus analysés dans chaque descendance (les analyses statistiques ont été faites en tenant compte du déséquilibre).

TABLEAU I

Analyse des descendance des croisements entre mâles stériles et mainteneurs : nombre de plantes mesurées dans chaque descendance

Mâles stériles Mainteneurs	C 21-4	MST 11	MS 49 T	MS 19-5	Lu 18	GIE	Po 213	MSR 12	MSR 21
A II	25	24	23	19	24	24	22	24	24
A II × F II (1).	9	21	24	24	22	13	24	23	24
A II × F II (2).	23	24	24	22	25	24	24	24	24
K 5-7	16	23	24	21	24	24	24	24	23
To 53 A ₁	24	22	6	21	20	10	24	20	0
1552	24	21	18	24	23	24	24	23	24
OR II	24	20	0	24	24	24	25	1	24
OR 215	18	24	0	15	24	24	21	5	10

N.B. — Nombre total de plantes mesurées : 1 469.



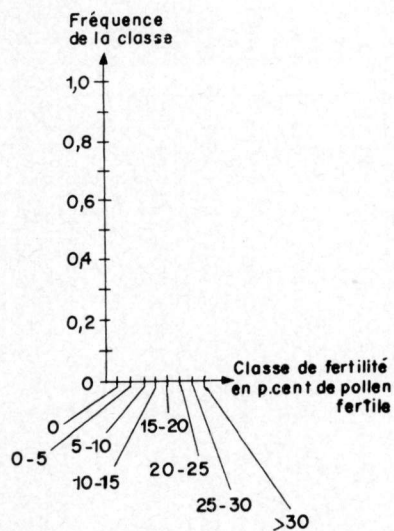
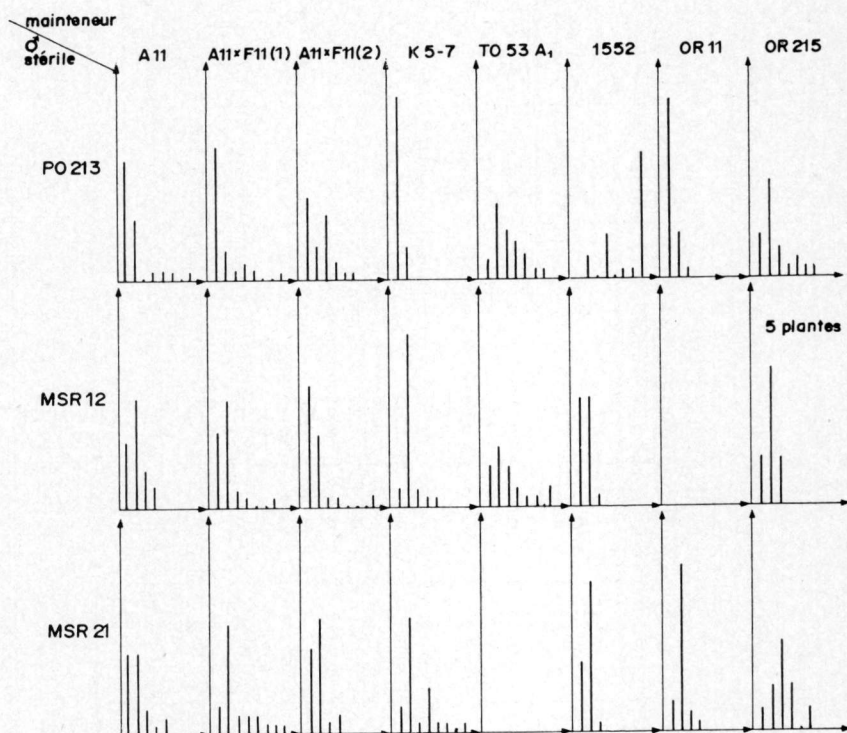


FIG. 1. — Histogramme des distributions de la stérilité dans la descendance des croisements entre mâles stériles et mainteneurs

TABLEAU 2

Analyse des descendance de croisements entre mâles stériles et mainteneurs : estimations des fertilités moyennes et des variances intradescendances

Mâles stériles Mainteneurs	C 21-4	MST 11	MS 49 T	MS 19-5	Lu 18	GIE	Po 213	MSR 12	MSR 21	$\bar{x}$
A 11	0,01 0,0003	0,02 0,0008	0,03 0,0036	0,02 0,0015	0,04 0,0037	0,01 0,0006	0,04 0,0128	0,03 0,0013	0,03 0,0027	0,02
A 11 × F 11 (1)	0,01 0,0007	0,03 0,0032	0,05 0,0047	0,03 0,0035	0,29 0,0505	0,14 0,389	0,08 0,0066	0,04 0,0059	0,08 0,0087	0,08
A 11 × F 11 (2)	0,04 0,0057	0,02 0,0005	0,02 0,0031	0,04 0,0032	0,09 0,0140	0,03 0,0011	0,05 0,0034	0,03 0,0094	0,03 0,0027	0,04
K 5-7	0,00 5,10 ⁻⁵	0,01 0,0001	0,05 0,0052	0,10 0,0106	0,12 0,0131	0,07 0,0093	0,00 2,10 ⁻⁵	0,03 0,0017	0,07 0,0089	0,05
TO 53 A ₁	0,01 0,0013	0,02 0,0031	0,05 0,0037	0,13 0,0403	0,05 0,0046	0,03 0,0003	0,09 0,0053	0,09 0,0166		0,06
I 552	0,06 0,0049	0,08 0,0092	0,14 0,0211	0,16 0,0235	0,20 0,0450	0,08 0,0184	0,29 0,0300	0,01 0,0005	0,01 0,0003	0,11
OR 11	0,12 0,0210	0,16 0,0398		0,15 0,0415	0,17 0,0302	0,24 0,0388	0,01 0,0003	0,02	0,03 0,0011	0,10
OR 215	0,10 0,0135	0,11 0,0094		0,20 0,0366	0,26 0,0374	0,25 0,0396	0,07 0,0068	0,04 0,0022	0,08 0,0047	0,14
$\bar{x}$	0,04	0,06	0,06	0,10	0,15	0,11	0,08	0,04	0,05	0,08

N.B. — 1. En haut de chaque case : valeur moyenne de la descendance.

En bas de chaque case : variance intradescendance.

N.B. — 2. $\bar{x}$: valeur moyenne d'une ligne ou d'une colonne.

Une autre expérience a été conduite en champs en 1978. La majorité des descendances étaient représentées à l'exception de celles de TO 53 A₁ et de MS 19-5. Les mesures de fertilité pollinique ont porté sur environ 18 plantes dans chaque croisement. Ces derniers résultats ne feront pas l'objet ici d'une analyse statistique, nous étudierons seulement la corrélation entre les moyennes des descendances dans les deux milieux.

Résultats expérimentaux

Sur l'ensemble des descendances la fertilité pollinique moyenne est toujours faible et la moyenne générale : 0,08 atteste de la bonne valeur du matériel végétal (tabl. 2).

Néanmoins, dans pratiquement toutes les descendances apparaissent de grandes variations de la fertilité pollinique selon les individus. Les histogrammes des distributions révèlent un pourcentage non négligeable de plantes de fertilité pollinique supérieure à 35 p. 100 (fig. 1).

L'examen des histogrammes de distribution semblait suggérer l'existence dans les descendances de deux sous-populations, distribuées l'une autour d'une fertilité pollinique moyenne faible (de l'ordre de 0,05), l'autre autour d'une fertilité pollinique moyenne plus élevée.

Une première série d'analyses de variance a alors été effectuée sur les variables transformées en $\text{Arcsin } \sqrt{p_{ijk}}$ où p_{ijk} est la stérilité pollinique du k^{e} descendant du croisement mâle stérile i par le mainteneur j car les variances intradescendances sont très inégales et la corrélation entre la moyenne et la variance intradescendance est élevée : 0,91 (tabl. 2).

On a ainsi comparé les résultats obtenus d'une part en incluant tous les descendants des croisements, d'autre part en restreignant les analyses aux plantes de fertilité pollinique inférieure ou égale à 35 p. 100. Une telle fertilité pollinique suffit en effet à assurer les fécondations et par ailleurs dans plusieurs descendances les classes de 20 à 30 p. 100 de pollen fertile sont peu représentées tandis qu'une augmentation des fréquences est observée à partir de 35 p. 100 de pollen fertile (fig. 1). Aucune différence notable n'est apparue ni sur les résultats des tests ni sur les estimations des effets moyens ou des interactions. Il n'y a donc pas lieu, d'après ces seuls résultats expérimentaux, de séparer chaque descendance en deux sous-populations. Quelle que soit la fertilité pollinique, la variabilité entre les individus semble avoir le même conditionnement.

Par ailleurs, les variances intradescendances des données transformées en $\text{Arcsin } \sqrt{p_{ijk}}$ sont toujours très supérieures aux variances d'échantillonnages calculées sous l'hypothèse d'une loi binomiale qui sous-entend, en particulier, l'absence de différences d'origine génétique entre individus frères; de plus des inégalités de variances subsistent malgré la transformation. Une étude de la liaison entre la moyenne et la variance a montré que la transformation $\sqrt{1 - p_{ijk}}$ était préférable. Cette nouvelle transformation qui stabilise mieux les variances intradescendances (tabl. 3) a donc été utilisée pour tous les calculs ultérieurs.

TABLEAU 3

*Analyse des descendance de croisements entre mâles stériles et mainteneurs : estimations des variances intradescendances
à partir des données transformées en $\sqrt{}$ de la fertilité pollinique*

Mâles stériles Mainteneurs	C 21-4	MST 11	MS 49 T	MS 19-5	Lu 18	GIE	Po 213	MSR 12	MSR 21
A 11	0,037	0,035	0,069	0,042	0,056	0,046	0,078	0,044	0,054
A 11 × F 11 (1)	0,041	0,048	0,072	0,049	0,051	0,076	0,069	0,058	0,051
A 11 × F 11 (2)	0,071	0,029	0,046	0,063	0,064	0,037	0,070	0,062	0,049
K 5-7	0,028	0,032	0,067	0,081	0,043	0,051	0,015	0,022	0,042
TO 53 A ₁	0,042	0,042	0,072	0,127	0,041	0,020	0,033	0,063	
I 552	0,061	0,036	0,040	0,062	0,040	0,049	0,022	0,043	0,031
OR 11	0,094	0,132		0,142	0,075	0,049	0,030		0,025
OR 215	0,048	0,017		0,070	0,024	0,034	0,054	0,048	0,046

Les programmes de calcul ne permettant d'étudier que les interactions deux à deux, deux modèles d'analyse de variance ont été utilisés; le premier s'écrit :

$$F_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + E_{ijk}$$

où F_{ijk} est la $\sqrt[4]{}$ de la fertilité pollinique du k^e descendant du croisement entre le mâle stérile i et le mainteneur j ,

μ la moyenne générale,

α_i l'effet moyen du génotype mâle stérile i ,

β_j l'effet moyen du génotype mainteneur j ,

γ_{ij} l'interaction entre le mâle stérile i et le mainteneur j ,

E_{ijk} une variable aléatoire résiduelle d'espérance nulle et de variance γ_E .

Dans le second modèle :

$$F_{ijk} = \mu + \alpha'_i + \delta'_{ik} + \beta'_j + \epsilon'_{jl} + \gamma'_{ij} + E'_{ijk}$$

F_{ijk} et μ ont la même signification,

α'_i est l'effet de l'origine géographique i du cytoplasme ($1 \leq i \leq 4$),

δ'_{ik} l'effet du génotype k dans l'origine du cytoplasme i ,

β'_j l'effet de l'origine géographique j des mainteneurs,

ϵ'_{jl} l'effet du génotype l dans l'origine géographique j ($1 \leq j \leq 3$),

γ'_{ij} l'interaction entre les origines géographiques i et j ,

E'_{ijk} une variable aléatoire résiduelle d'espérance nulle et de variance γ'_E .

Dans les deux cas les dispositifs sont déséquilibrés à la fois par l'absence de trois croisements et par l'inégalité des effectifs des descendance.

Aussi bien pour la déhiscence que pour la fertilité tous les effets moyens et les interactions sont hautement significatifs dans les deux modèles (tabl. 4 et 5).

Les origines géographiques expliquent une grande part des différences entre génotypes. Il subsiste toutefois une variabilité intra-origine liée à des interactions

TABLEAU 4

Analyse des descendance des croisements entre mâles stériles et mainteneurs : résultats de l'analyse de variance selon le modèle $F_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + E_{ijk}$

Mesure	Source de variation	Somme des Carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Déhiscence	Génotype mâle stérile	199,10	8	24,89	74,80**
	Génotype mainteneur	74,97	7	10,71	32,19**
	Interaction mâle stérile x mainteneur	90,45	53	1,71	5,13**
	Résiduelle	465,84	1400	0,33	
Fertilité	Génotype mâle stérile	7,206	8	0,901	17,25**
	Génotype mainteneur	10,936	7	1,562	29,33**
	Interaction mâle stérile x mainteneur	15,024	53	0,283	5,43**
	Résiduelle	73,083	1400	0,052	

N.B. 1. — Les résultats sur la fertilité sont obtenus à partir des données transformées en $\sqrt[4]{}$

N.B. 2. — ** Significatif au seuil de 1 p. 100.

TABLEAU 5

Analyse des descendance des croisements entre mâles stériles et mainteneurs :
résultats de l'analyse de variance selon le modèle : $F_{ijk} = \mu + \alpha'_i + \delta'_{ik} + \beta'_j + \varepsilon_{ji} + \gamma'_{ijk}$

Mesure	Source de variation	Somme des carrés	d.d.l.	Carré moyen	F
Déhiscence	Origine géographique mâle stérile . .	193,24	3	64,41	186,03**
	Origine géographique mainteneur . .	61,65	2	30,83	89,03**
	Interaction entre les origines géographiques	55,26	6	9,21	26,60**
	Génotype mâle stérile intra-origine .	5,86	6	1,17	3,38**
	Génotype mainteneur intra-origine .	13,32	5	2,66	7,69**
	Résiduelle	501,03	1447	0,35	
Fertilité	Origine géographique mâle stérile . .	5,751	3	1,917	34,28**
	Origine géographique mainteneur . .	7,882	2	3,941	70,47**
	Interaction entre les origines géographiques	7,182	6	1,197	21,40**
	Génotype mâle stérile intra-origine .	1,455	5	0,291	5,20**
	Génotype mainteneur intra-origine .	3,055	5	0,611	10,93**
	Résiduelle	80,924	1447	0,056	

N.B. 1. — Les résultats sur la fertilité sont obtenus à partir des données transformées en $\sqrt[4]{}$
N.B. 2. — ** Significatif au seuil de 1 p. 100.

TABLEAU 6

Analyse des descendance des croisements entre mainteneurs et mâles stériles :
estimations des effets moyens des origines géographiques et de leurs interactions

Mainteneurs	Mâles stériles				Effet moyen de l'origine mainteneur
	U.S.	Fr.	Pol.	Ru.	
France	— 0,088	— 0,038	— 0,142	0,142	— 0,146
	— 0,025	— 0,004	— 0,006	0,062	— 0,055
Germano-Hongrois	0,138	— 0,233	0,370	— 0,250	0,186
	0,044	— 0,061	0,283	— 0,201	0,108
Soviétique	0,181	0,274	— 0,689	— 0,276	0,331
	0,049	0,053	0,171	0,058	0,100
Effet moyen de l'origine mâle stérile	— 0,305	— 0,135	0,702	0,364	
	— 0,034	0,107	— 0,040	— 0,029	

N.B. en haut de chaque case effet moyen ou interaction pour la déhiscence, en bas pour la fertilité (transformée en $\sqrt[4]{}$).

entre un génotype (mâle stérile ou mainteneur) et une origine géographique (mainteneur ou mâle stérile) et à des interactions entre génotypes intra-origines. Les interactions entre un génotype mâle stérile et un génotype mainteneur sont élevées. La somme des carrés de leurs effets, estimée approximativement en supposant un effectif moyen de 21 individus par descendance, est environ le double de la somme des carrés des effets mâles stériles ou mainteneurs. Le couple de génotypes intervient donc pour une grande part dans la variabilité interdescendances.

Les estimations des effets moyens de l'origine géographique du mainteneur montrent, pour les deux caractères, une opposition entre l'origine française transmettant une fertilité et une déhiscence faible et les origines germano-hongroise et soviétique (tabl. 6). Pour la fertilité, les origines géographiques des cytoplasmes se différencient en deux groupes : origine française d'un niveau moyen de fertilité élevée et origines américaine, polonaise ou soviétique assurant une faible fertilité. Les origines française et américaine produisent des descendants bien moins déhiscents que les origines soviétique et polonaise.

Pour les deux caractères les estimations des interactions montrent qu'une meilleure stérilité est assurée dans les descendances des croisements entre mâles stériles polonais ou soviétiques et mainteneurs soviétiques, ou mâles stériles américains et mainteneurs français. Le mainteneur germano-hongrois maintient bien la stérilité des mâles stériles d'origine soviétique mais mal celle du mâle stérile polonais (tabl. 6). Sauf pour l'origine française, l'estimation de l'effet moyen pour la fertilité de chaque origine mâle stérile est, en valeur absolue, inférieure aux estimations des interactions dans la même origine; les effets moyens des origines géographiques des mainteneurs sont, en revanche, du même ordre de grandeur que leurs interactions.

L'examen du tableau 7 où sont portées les estimations des effets moyens et des interactions entre génotypes dans le premier modèle d'analyse montre bien que pour la fertilité, les origines géographiques n'expliquent pas toutes les interactions. Il existe en particulier une très forte stérilité dans la descendance du croisement entre Po 213 et K 5-7 l'un d'origine polonaise, l'autre d'origine française. Aussi bien pour les mâles stériles que pour les mainteneurs, l'amplitude des interactions (mesurée par la différence entre les deux valeurs extrêmes) varie selon les génotypes mais il ne semble pas exister de relation simple entre l'amplitude des interactions et la valeur de l'effet moyen (tabl. 7). On peut donc affirmer que ces interactions élevées n'ont pas été introduites par la transformation.

Les variations de la déhiscence et de la fertilité (transformée en $\sqrt{\quad}$) paraissent assez fortement liées et des indices analogues à des corrélations ont été estimés dans le second modèle (tabl. 8).

Les faibles nombres de degrés de liberté limitent la précision des estimations de la liaison entre les effets comme entre les interactions. Toutefois compte tenu de la liaison intra et des liaisons associées aux clones intra-origine la relation entre les deux caractères semble bien d'origine génétique et c'est dans la descendance des mainteneurs que les deux caractères semblent le plus fortement liés. Un parent mainteneur transmettrait donc à ses descendants des caractères de fertilité et de déhiscence étroitement liés.

Par ailleurs la corrélation entre les moyennes des descendances (transformées en $\sqrt{\quad}$) mesurées en serre en 1977 et en champs en 1978 est hautement significative : 0,89. L'excellente corrélation obtenue justifie aussi *a posteriori* la transformation.

TABLEAU 7

Analyse des descendance des croisements entre mâles stériles et mainteneurs : estimations des interactions entre génotypes

Mâles stériles Mainteneurs	Lu 18	GIE	MS 19-5	MS 49 T	MSR 21	MSR 12	MST 11	Po 213	C 21-4	Effet moyen	Δ
OR 215	— 0,010	0,047	0,024	0,000	— 0,070	— 0,148	0,055	— 0,074	0,025	0,183	0,195
I 552	— 0,005	— 0,104	0,068	0,096	— 0,182	— 0,212	0,044	0,301	0,017	0,100	0,483
OR 11	— 0,019	0,167	— 0,036	0,000	— 0,035	0,010	0,065	— 0,241	0,121	0,034	0,408
A 11 $\times$ F 11 (1) . . .	0,167	0,062	— 0,051	— 0,039	0,095	— 0,010	— 0,033	— 0,106	— 0,125	— 0,008	0,292
TO 53 A ₁	— 0,098	— 0,009	0,009	— 0,003	0,000	0,129	— 0,115	0,204	— 0,125	— 0,023	0,254
K 5-7	0,060	0,012	0,098	0,006	0,132	0,083	— 0,121	— 0,204	— 0,077	— 0,042	0,336
A 11 $\times$ F 11 (2) . . .	— 0,028	— 0,020	— 0,016	0,030	— 0,020	— 0,047	0,041	0,085	— 0,038	— 0,065	0,132
A 11	— 0,066	— 0,129	— 0,092	— 0,008	0,046	0,101	0,062	0,040	— 0,030	— 0,117	0,230
Effet moyen	0,149	0,068	0,008	— 0,008	— 0,018	— 0,032	— 0,047	— 0,049	— 0,088		
Δ	0,265	0,296	0,190	0,126	0,314	0,341	0,186	0,542	0,246		

N.B. Δ : amplitude des interactions mesurée par la différence entre les deux valeurs extrêmes.

TABLEAU 8

Estimations de la liaison entre la déhiscence et la fertilité dans le second modèle d'analyse de variance

Origine de la liaison	Estimation
Origine géographique du mâle stérile	— 0,200
Origine géographique du mainteneur	0,972
Interaction entre les origines géographiques	0,850
Clone mâle stérile intra-origine	0,624
Clone mainteneur intra-origine	0,995
Intra	0,566

L'équation de la fertilité moyenne en serre (y transformée en $\sqrt[4]{y}$) sur la fertilité en champs (x transformée en $\sqrt[4]{x}$) : $y = 0,06 + 0,93 x$ montre que les valeurs moyennes de fertilité mesurées dans les deux conditions de milieu sont tout à fait comparables.

Discussion

L'ensemble des résultats expérimentaux apporte divers renseignements sur les caractéristiques de la stérilité mâle de la Luzerne et son utilisation éventuelle en sélection.

En premier lieu, même si les interactions entre les génotypes mâles stériles et mainteneurs sont en grande partie expliquées par des interactions entre les origines géographiques, le niveau moyen de stérilité de chaque descendance ne dénote aucune exclusion nette entre une origine cytoplasmique et une origine mainteneur. De même, en faisant abstraction de l'origine géographique et malgré l'importance des interactions entre les individus, aucune exclusion entre deux génotypes n'est révélée puisque les fertilités moyennes les plus élevées (0,29) correspondent à des descendances où les classes 0 p. 100 ou 0 à 5 p. 100 de pollen viable sont toujours représentées (fig. 1). De plus, tous les intermédiaires entre des valeurs moyennes de fertilité de 0 à 29 p. 100 existent (tabl. 9).

On peut alors supposer que les interactions entre origines géographiques traduisent des affinités créées par le mode de criblage du matériel : les mainteneurs

TABLEAU 9

Distribution des moyennes de fertilité pollinique des descendances des croisements entre mâles stériles et mainteneurs

Fertilité pollinique moyenne	0	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	> 0,30
Nombre de descendances	33	17	8	4	3	4	0	

d'origine soviétique ont été retenus pour leur valeur de maintien en croisement avec des mâles stériles de la même origine tandis que les mainteneurs d'origine française ont été jugés par rapport aux mâles stériles d'origine américaine. La stérilité de ces combinaisons se trouve donc augmentée mais chaque génotype mâle stérile ou mainteneur conserve ses caractéristiques, avec parfois un niveau moyen élevé, dans d'autres combinaisons.

Les différences entre les niveaux moyens de maintien proviennent du fait que les mainteneurs français conduisent à un fort niveau de stérilité dans presque toutes les descendance quelle que soit l'origine géographique du cytoplasme tandis que les mainteneurs russes maintiennent mieux la stérilité du génotype d'origine russe ou polonaise que celle des génotypes des autres origines (tabl. 2).

Le génotype Lu 18 a été isolé de façon complètement indépendante des autres origines, le génotype GIE en est issu et l'analogie de leurs comportements, aussi bien pour la stérilité pollinique que pour des caractéristiques de fertilité femelle (KOTO, 1977; DJUKIC, 1978; LALOE, 1978), n'est pas surprenante. Les autres origines selon la connaissance qu'on a de leurs généalogies sont elles aussi indépendantes. Même s'il n'est pas possible de prouver que les cytoplasmes des diverses origines sont différents, il est certain qu'ils ont eu des histoires et des contextes génotypiques différents. Il existe des différences entre la réaction moyenne des génotypes mâles stériles vis-à-vis des mainteneurs mais dans les descendance de chacun (même de Lu 18 toujours croisé avec des mainteneurs choisis pour d'autres cytoplasmes) se trouvent des combinaisons d'un niveau moyen de stérilité élevé.

Les mainteneurs semblent donc universels et bien que la fertilité varie selon le croisement, il n'y aurait pas de compatibilité ou d'incompatibilité stricte entre les cytoplasmes et les mainteneurs mais plutôt des combinaisons de génotypes plus ou moins performantes pour la stérilité des descendants.

Bien que l'état autotétraploïde de la Luzerne complique les analyses génétiques il semble que le caractère mainteneur soit lié, dans les génotypes observés, à un gène récessif (GUY, 1974). En admettant que les génotypes mainteneurs sont homozygotes à ce locus (aucune ségrégation apparente n'a été observée et la variance intradescendance a été stabilisée par la suppression de la liaison entre la moyenne et la variance), ils diffèrent par le reste de leurs génomes et se trouvent vraisemblablement hétérozygotes à de nombreux locus. Les interactions entre génotypes mâles stériles et mainteneurs et la variabilité intradescendance se trouveraient alors expliquées en supposant qu'en dehors de la nécessité d'un cytoplasme mâle stérile et du gène de maintien pour assurer un niveau moyen de stérilité élevé, un contrôle polygénique modulerait l'expression de cette stérilité en interaction avec le cytoplasme. Il en résulterait alors une expression quantitative de la stérilité.

Selon cette hypothèse, les variabilités inter- et intradescendance seraient de même nature et la forte stérilité d'un individu résulterait d'une coadaptation favorable entre son génotype et son cytoplasme.

Cette hypothèse qui expliquerait les interactions et les variations intradescendance n'exclut ni l'existence de mainteneurs d'un niveau moyen élevé ni la possibilité pour des cytoplasmes de présenter des stérilités plus ou moins profondes (DEMARLY, 1977). Ces deux caractéristiques sont d'ailleurs à relier aux effets principaux des analyses de variance.

Les effets de milieu peuvent évidemment conditionner l'expression de la stérilité; au niveau individuel, ils sont ici indissociables des effets génétiques. Toutefois la liaison étroite entre les performances moyennes dans les deux condi-

tions de milieu montre que les effets du milieu et les interactions entre le génotype et le milieu affectent peu les moyennes des descendance et la moyenne générale.

Par ailleurs, la déhiscence et la stérilité sont très liées surtout dans les descendance des mainteneurs : un bon mainteneur produit des descendants à la fois indéhiscents et stériles. Si comme les résultats expérimentaux semblent le montrer, la liaison est bien d'origine génétique la présence simultanée des deux caractères peut être considérée comme une double sécurité. On peut cependant se demander si l'indéhiscence ne masquerait pas une fertilité pollinique impossible à noter par l'absence du pollen hors des anthères; dans ce cas, si certaines situations génétiques ou environnementales peuvent rompre la liaison entre les deux caractères, une forte stérilité associée à une déhiscence faible ou moyenne pourrait constituer un critère de choix plus sûr, à condition toutefois que la stérilité pollinique ne varie pas selon le milieu.

Conclusion

Aussi bien pour la connaissance fondamentale de la stérilité mâle cytoplasmique de la Luzerne que pour son utilisation en sélection, il est nécessaire d'éclaircir le conditionnement génétique de la variabilité inter- et intradescendance; nous nous proposons donc d'analyser l'hérédité de l'aptitude au maintien et les interactions entre l'aptitude au maintien et les cytoplasmes.

Un problème, important pour la sélection, est en effet de connaître les possibilités de réorganisations génétiques entre mainteneurs et leurs modes de multiplications compatibles avec la persistance d'un bon niveau de maintien.

Un autre problème est celui du seuil de fertilité à fixer. Suffit-il de prendre en compte la stérilité moyenne d'un certain nombre de plantes pour retenir un couple mâle stérile $\times$ mainteneur, ou bien faut-il faire un choix individuel des génotypes intradescendance? Quelle est, enfin, la stabilité de la stérilité au cours de rétro-croisements avec un même mainteneur ou avec des mainteneurs différents?

Les réponses à ces questions devraient permettre à la fois d'orienter les schémas de sélection utilisant la stérilité mâle cytoplasmique de la Luzerne et de progresser dans la compréhension des mécanismes en cause.

Reçu pour publication en septembre 1979

Summary

*Cytoplasmic male sterility in Lucerne :
Study of inter- and intra-progeny variability in crosses
between male steriles and maintainers from different origins*

Pollen fertility and anther dehiscence have been studied on the offsprings of 9 male sterile crossed by 8 maintainer lucerne clones of different geographic origin.

The average pollen fertility of the whole set of offsprings is low but large variations can be observed as well among offsprings as among brother plants.

The measure of pollen fertility was transformed into $\sqrt[4]{\text{ }}$ of the frequency of fertile pollen in order to stabilize the intra-progeny variances.

For both characters, the geographic origin explains a great part of the inter-progeny variability, but the interaction between couples of parent genotypes are also very high.

Maintainers transmit to their progeny characters of fertility and dehiscence closely related. Though, as far as we know, the cytoplasm from different geographic sources originated independently, no disagreement between any maintainer and any male sterile clone was observed. Maintainers seem then to be universal.

The interactions between male sterile and maintainer genotypes and the intra-progeny variability might be explained assuming that beside the necessity for a male sterile cytoplasm and a maintainer gene to insure a high average level of sterility, a polygenic control modulate the expression of this sterility in relation with the cytoplasm.

Références bibliographiques

- ALEXANDER M. P., 1969. Differential staining of aborted and non aborted pollen. *Stain Technol.*, **44**, 117-122.
- ANNOU G., 1977. *Étude de compatibilités entre mâles stériles et mainteneurs chez la luzerne (Medicago sativa L.). Relation entre fertilité pollinique et aptitude au maintien.* D. A.A. Amélioration des Plantes (ENSA, Rennes), 27 p.
- BARNES D. K., BINGHAM E. T., AXTELL J. D., DAVIS W. H., 1972. The flower, sterility mechanisms and pollination control, in *Alfalfa science and technology*, HANSON C. H. (ed.), Madison, USA, 135-137.
- DEMARLY Y., 1977. Aspects caractéristiques de la biologie de la reproduction, in *Génétique et Amélioration des Plantes*. Masson (ed.), Paris, 111-120.
- DJUKIC D., 1978. *Étude de quelques caractéristiques morphologiques de fertilité chez différentes origines mâles stériles de la luzerne (Medicago sativa L.).* Rapport de stage S.A.P.F., 18 p.
- GUY P., 1974. Hypothèses sur le déterminisme d'une stérilité mâle. *Comptes rendus Réunion d'EUCARPIA, Groupe Medicago sativa*, Kompolt 35-48.
- KOTO E., 1977. *Étude comparée de la fertilité femelle de quelques génotypes mâles stériles en croisement avec des mainteneurs et des pollinisateurs témoins chez la Luzerne (Medicago sativa L.).* Rapport de stage D.E.A. Génétique quantitative et appliquée, 59 p.
- LALOE F., 1978. *Étude des paramètres de la fertilité de clones mâles stériles et mainteneurs chez la Luzerne (Medicago sativa L.).* Rapport de stage A.C.V.F., 33 p.
- SINSKA J., 1976. Ergebnisse der Forschung der Pollensterilität der Luzerne. *Comptes rendus Réunion d'EUCARPIA, Groupe Medicago sativa*, Piestany, 216-231.
- STASZEWSKI Z., JAKUBOWSKA B., 1976. Comparison of male sterility inheritance in the selections of lucerne of diverse origin. *Comptes rendus Réunion d'Eucarpia, Groupe Medicago sativa*, Piestany, 210-215.

**Effectif et nombre de cycles de sélection à utiliser
lors de l'emploi de la filiation unipare
(single seed descent method) ou de l'haplométhode
pour la création de variétés lignées « pures » à partir d'une F_1**

G. FOUILLOUX

*Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes,
Centre national de Recherches agronomiques, I.N.R.A.,
78000 Versailles (France)*

Résumé

L'influence de l'effectif sur les résultats d'un premier cycle ou de plusieurs cycles successifs de sélection menés en filiation unipare (Single Seed Descend Method) ou en utilisant l'haplométhode est étudiée. Pour cela, il est nécessaire de poser un certain nombre d'hypothèses restrictives de façon à rendre binomiale la distribution des lignées et permettre un calcul numérique :

- 1) absence de liaisons génétiques,
- 2) contribution identique de chaque locus favorable à l'élévation du niveau du caractère et absence d'épistasie additive-additive,
- 3) nombre infini de générations d'autofécondation par cycle dans le cas de la filiation unipare,
- 4) absence d'effet du milieu au moment du choix.

Sous ces conditions, les résultats obtenus lors d'un premier cycle de sélection sont modestes. Environ deux tiers des loci favorables peuvent, au maximum, être cumulés dans la meilleure lignée pure obtenue avec un effectif raisonnable pour un caractère hautement polygénique. Il ne semble donc pas utile d'augmenter outre mesure l'effectif sur lequel porte la sélection : le doublement de l'effectif n'accroît que peu la valeur du résultat final. Un maximum de 200 lignées pures paraît amplement suffisant lorsqu'on cherche à maximiser le niveau d'un caractère, en utilisant un seul cycle de filiation unipare et d'haplométhode.

Par contre, le calcul numérique montre qu'un programme utilisant plusieurs cycles successifs de sélection donne d'excellents résultats même avec des effectifs modestes. A coût égal, ils sont bien supérieurs à ceux obtenus en un seul cycle. Ces méthodes de sélection récurrente doivent, donc être préférées malgré leur moindre rapidité apparente lorsqu'il s'agit de maximiser l'expression d'un caractère polygénique dans une lignée pure. Elles permettent une meilleure utilisation des moyens.

La validité de l'application pratique des résultats obtenus par le calcul numérique est discutée en fonction du non-respect des hypothèses posées. Nos conclusions restent généralement valables. La critique du schéma de sélection utilisé pour le calcul numérique a également été faite.

Introduction

L'emploi de méthodes de sélection séparant la phase d'évolution de la consanguinité de la phase de choix, tente de plus en plus les sélectionneurs d'espèces autogames dont le but est la création de variétés « lignées pures ». La rapidité et la simplicité de ces méthodes séduisent ces sélectionneurs d'autant plus que la méthode pedigree conduit dans certains cas à une impasse (FOUILLOUX, 1977).

La première de ces méthodes, l'haplométhode (HD), n'est malheureusement utilisable que chez quelques espèces. Les progrès, quoique rapides dans ce domaine, ne laissent pas entrevoir, malgré tout, la possibilité de son utilisation à court ou à moyen terme chez certaines espèces ayant une grande importance économique comme beaucoup de légumineuses.

L'autre méthode, la « Single Seed Descent Method » (S.S.D.) que nous appelons en français la méthode de la filiation unipare (F.U.P.) a un champ d'utilisation plus large. Elle peut être utilisée avec succès chez des légumineuses autogames telles que le Pois, le Haricot ou le Soja ou sur toute autre espèce autogame à cycle végétatif court.

La paternité de cette méthode revient à GOULDEN (1939). Elle consiste à obtenir une collection de lignées pures à partir d'une population de base constituée d'individus hétérozygotes en disjonction, par des générations d'autofécondation successives en fixant à un le coefficient de multiplication de chaque plante. L'effectif de la population de base, souvent une F_2 , et l'effectif des lignées pures obtenues seront donc identiques en l'absence de pertes accidentelles. Contrairement à la méthode de la « Sélection Pedigree Modifiée » proposée par BRIM (1966), aucune sélection ne doit être pratiquée durant la phase d'évolution de la consanguinité : les plantes peuvent donc être élevées dans des conditions artificielles, en serre ou dans les pays tropicaux, ce qui permet d'accroître considérablement le nombre de générations par unité de temps. Chez le Haricot, par exemple, on peut faire 4 générations par an en serre et obtenir ainsi des lignées F_6 deux ans après le croisement. La phase de choix portera uniquement sur des lignées avancées et pratiquement fixées que l'on pourra reproduire à volonté et tester avec précision.

Ces deux méthodes, F.U.P. débutée sur une population en ségrégation ou haplométhode exercée sur les gamètes des plantes mères de cette population sont presque équivalentes en l'absence d'effets secondaires liés à l'haploïdie, ou à la technique d'obtention des haploïdes, ou de leur doublement. Elles sont rigoureusement identiques en l'absence de linkage puisque la principale différence réside dans le nombre de méioses effectuées, c'est-à-dire dans la possibilité de recombinaisons efficaces (SNAPE, 1976; RIGGS et SNAPE, 1977).

De nombreux auteurs ont comparé la F.U.P. (ou l'H.D.) à la sélection généalogique. Ils l'ont fait, soit par simulation (CASALI, TIGCHELLAAR, 1975b); (SNAPE et RIGGS, 1975), soit sur des exemples concrets comme sur la Tomate (CASALI et TIGCHELLAAR, 1975a), sur l'Orge (PARK *et al.*, 1976), ou sur le Soja (BAOERMA et COOPER, 1973). Ils ont montré que la F.U.P. était au moins aussi efficace que la sélection généalogique sur les caractères moyennement et faiblement héritable.

En fait, l'un des grands avantages de ces méthodes est la possibilité de sélectionner simultanément des caractères fortement et faiblement héritable sur une même collection de lignées « pures ». Toute la variabilité des caractères faiblement héritable est conservée au moment du choix alors que ce n'est généralement pas le cas avec la méthode pedigree. Cette dernière conduit le plus souvent à utiliser

en début de cycle, un taux de sélection trop élevé sur les caractères hautement héréditaires, et d'importance économique secondaire, réduisant ainsi, par dérive, les possibilités de sélection sur les caractères faiblement héréditaires en fin de cycle. Dans le cas de la filiation unipare ou de l'haplométhode, les taux de sélection pour l'ensemble des caractères en ségrégation peuvent être modifiés à tout moment et choisis en fonction des résultats. On peut donc sélectionner des lignées répondant plus précisément aux besoins économiques.

De plus, la sélection sur des lignées « fixées » évite les biais liés à l'état hétérozygote (dominance et hétérosis) et peut être répétée plusieurs années de suite sur le même matériel. Il est ainsi possible d'envisager la sélection sur de nouveaux critères alors que l'on ne pouvait l'envisager que difficilement avec la méthode pedigree. C'est le cas lorsque les notations à effectuer sont longues et difficiles comme, par exemple, l'évolution de la floraison et de la maturité des gousses chez le Haricot vert. C'est également le cas lorsqu'il est nécessaire d'attendre des conditions naturelles favorables à l'expression d'un caractère : l'appréciation de la tolérance au champ à un parasite alors qu'on ne dispose pas de test d'infection artificielle suffisamment discriminant.

Ces avantages sont malheureusement limités par des difficultés d'ordre pratique. L'obtention de la collection de lignées pures peut être coûteuse. L'haplométhode nécessite une haute technicité et la fréquence d'obtention des haploïdes doublés peut être faible. Ce problème a été étudié par NEI (1963). La F.U.P. ne nécessite pas une haute qualification de la main-d'œuvre mais par contre demande un équipement important en serre chauffée et éclairée.

Pour réduire les surfaces de serres utilisées on peut tenter d'améliorer les techniques de culture permettant une augmentation de la densité de plantation (RIGGS et HAYTER, 1975). L'obtention d'une seule graine par individu suffit, mais encore faut-il l'obtenir ! On risque très souvent, d'introduire une pression de sélection exercée par les conditions artificielles de culture, et celle-ci risque d'être préjudiciable si les facteurs génétiques éliminés sont liés à des gènes favorables aux caractères recherchés. Mais même si les disparitions de lignées sont aléatoires, il faut bien se rendre compte qu'une perte de 10 p. 100 de l'effectif à chaque génération (c'est une bonne performance) réduit d'un tiers environ le nombre de lignées F_6 obtenues par F.U.P. à partir d'une population F_2 d'effectif donné : Si la perte est de 20 p. 100, $3/5$ des lignées auront disparu en F_6 ! Il faudra donc choisir un effectif de départ important de façon à obtenir un nombre de lignées « pures » suffisantes sur lesquelles portera la sélection.

Mais quel doit-être cet effectif en fin de cycle pour assurer une efficacité suffisante de la méthode en fonction de son coût ? Il dépend évidemment du nombre de caractères à sélectionner et de leur déterminisme génétique. Un autre problème peut se poser : Doit-on préférer l'utilisation d'effectifs importants pour aboutir rapidement au but recherché en un seul cycle ou doit-on au contraire, utiliser des effectifs plus modestes en envisageant plusieurs cycles de sélection récurrente.

Nous tenterons de donner quelques éléments de réponse à ces questions dans le cas où l'objectif sera de maximiser le niveau d'un seul caractère. Un certain nombre d'hypothèses concernant le déterminisme génétique du caractère devront être posées. Nous examinerons dans la discussion les conséquences du non respect de ces hypothèses de façon à évaluer la valeur de nos résultats sur le plan pratique. Nous critiquerons également le schéma de sélection trop simpliste que nous avons adopté pour mener à bien le calcul numérique.

I. — Méthode de calcul numérique

A. — Remarques préalables

La filiation unipare effectuée pendant un nombre de générations d'auto-fécondation infini à partir d'une population de base en ségrégation fournit un échantillon de lignées « pures » non biaisé ou représentatif de l'ensemble des lignées pures que l'on aurait pu tirer de cette population.

En effet, la fréquence des différentes lignées homozygotes pour un locus donné tendra vers la fréquence des différents allèles présents à ce locus dans la population de base lorsqu'il n'y a pas sélection. Cette dernière restriction implique que, pour une génération donnée, le coefficient de multiplication doit être identique pour chaque individu. L'espérance mathématique du niveau d'un caractère étudié dans l'échantillon fourni par la F.U.P. sera donc égale à l'espérance mathématique du niveau qu'il aurait eu dans l'ensemble infini de lignées « pures » que l'on aurait pu tirer de cette population. De même, on peut démontrer que la variance de l'échantillon obtenue par la F.U.P. est égale à celle de l'ensemble des lignées pures tirées de la population. Cela reste vrai s'il existe des liaisons génétiques entre certains loci, si le nombre de générations d'autofécondation est infini.

En particulier, lorsque la filiation unipare débutera sur une population F_2 non sélectionnée obtenue à partir d'un croisement entre deux lignées homozygotes diploïdes, l'échantillon de lignées « pures » obtenu sera un échantillon représentatif de l'ensemble des lignées homozygotes que l'on aurait pu obtenir à partir de ce croisement. Si dans la F_1 du croisement nous avons un locus hétérozygote $a_i a_j$ nous obtiendrons deux séries de lignées homozygotes $a_i a_i$ et $a_j a_j$ dont les fréquences seront :

$$f(a_i a_i) = f(a_j a_j) \rightarrow \frac{1}{2} \quad \text{quand } m \rightarrow \infty \quad (1)$$

m étant le nombre de générations d'autofécondation.

Ces propriétés restent également vraies pour les lignées « pures » obtenues par haplométhode s'il n'y a pas de liaisons génétiques. Si ces dernières existent la variance de la population obtenue pourra être modifiée à cause du moindre nombre de recombinants (SNAPE, 1976; GALLAIS, 1978).

B. — Hypothèses sur le déterminisme génétique du caractère étudié

Soit un croisement entre deux lignées diploïdes $A \times B$ et un caractère polygénique mesurable ségrégeant dans la descendance. Celui-ci est déterminé dans la F_1 par n loci hétérozygotes que nous supposons non liés. De plus, par hypothèse, chacun des n loci hétérozygotes de la F_1 possèdera une allèle favorable et un allèle neutre. Par convention, nous appellerons locus favorable, un locus homozygote pour l'allèle favorable et chacun de ces loci favorables apportera une contribution identique à l'élévation du niveau du caractère. Ce dernier, dans les lignées « pures » obtenues, sera donc proportionnel au nombre de loci favorables. Cette hypothèse implique l'absence d'épistasie additive-additive. Nous supposons également qu'il n'y a pas d'effet du milieu sur l'expression du caractère.

Les lignées « pures » seront obtenues soit par filiation unipare à partir de la F_2 de ce croisement, en supposant le nombre de générations d'autofécondation infini, soit par haplométhode, à partir des gamètes de la F_1 .

C. — *Étude des résultats obtenus après un cycle de F.U.P. ou d'haplométhode*

1) *Fonction de densité des lignées « pures »*

Dans la mesure où les hypothèses posées sont vérifiées, la distribution des lignées pures obtenues, selon leur nombre de loci favorables est binominale. Les paramètres sont n (le nombre de loci concernés) et $p = 1/2$, la probabilité de l'évènement favorable chez une espèce diploïde (voir équation 1).

La moyenne de la distribution est :

$$\mu = \frac{n}{2}$$

et sa variance :

$$\sigma^2 = \frac{n}{4}$$

De même, si d est la contribution de chaque locus favorable à l'élévation du niveau du caractère, l'espérance mathématique de la valeur du caractère dans l'échantillon de lignées pures obtenues est :

$$\bar{X} = \frac{n}{2}d$$

et sa variance :

$$V = \frac{n}{4}d^2$$

Lorsque le nombre de loci n est suffisamment grand ($n > 10$ approximativement) on pourra utiliser l'approximation normale de la loi binomale au moyen de la variable centrée réduite :

$$z = \frac{x - \frac{n}{2}}{\sqrt{\frac{n}{4}}} \quad (2)$$

2) *Nombre de loci favorables contenus dans la q^{eme} meilleure lignée pure de l'échantillon*

Le problème de la valeur du q^{eme} meilleur individu issu d'un échantillon de taille N tiré d'une population distribuée selon une loi normale a été discutée par KENDALL (1945). Il signale que dans le cas où $q = 1$, l'espérance mathématique de la valeur du meilleur individu d'un échantillon de taille N issu d'une population normale centrée réduite a été calculée par TIPPET (1925) pour N allant de 2 à 1 000. Ces valeurs ont été reproduites dans « Tables for Staticians and Biometricians, Part II ».

Par ailleurs, FISCHER et YATES (1949) dans leurs tables donne l'espérance mathématique des q^{eme} meilleurs individus issus du même échantillon. Malheureusement les calculs n'ont été faits que pour les effectifs $N \leq 50$.

Ils donnent néanmoins l'équation permettant de calculer ces espérances mathématiques pour des valeurs supérieures de N :

$$\mathfrak{Z}_{Nq} = \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{N!}{(q-1)!(N-q)!} [1 - F(x)]^{N-q} [F(x)]^{q-1} x f(x) dx$$

où x , $f(x)$ et $F(x)$ sont respectivement, l'abscisse, l'ordonnée et l'ordonnée de l'intégrale de la fonction normale.

En l'absence de table, nous avons donc été amenés à calculer directement à partir de cette équation, les valeurs $\mathfrak{Z}_{Nq}$ dont nous avons besoin. Elles figurent dans le tableau I.

TABLEAU I

Déviation $\mathfrak{Z}_{Nq}$ par rapport à la moyenne du q^{eme} meilleur individu d'un échantillon d'effectif N tiré d'une population normale $N(0,1)$

N° d'ordre \ N	25	50	100	200	400		
$p = 1.$	1,97	2,25	2,51	2,75	2,97		
$p = 2.$	1,52	1,85	2,15	2,41	2,66		
$p = 3.$	1,26	1,63	1,95	2,23	2,49		
$p = 4.$	1,07	1,46	1,80	2,10	2,37		
$p = 5.$	0,91	1,33	1,68	1,99	2,28		
$p = 6.$	0,76	1,22	1,59	1,91	2,20		
$p = 7.$	0,64	1,12	1,51	1,84	2,13		
$p = 8.$	0,52	1,03	1,43	1,78	2,08		
N	800	1 000	5 000	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷
$p = 1.$	3,18	3,24	3,67	3,85	4,33	4,80	5,29

Le nombre de loci favorables contenus dans la q^{eme} meilleure lignée pure issue d'un échantillon d'effectif N , obtenue par F.U.P. ou par l'haplométhode, est donc d'après l'équation (2) :

$$r = \frac{n}{2} + \mathfrak{Z}_{Nq} \sqrt{\frac{n}{4}} \quad (3)$$

En ce qui concerne le meilleur individu ($q = 1$), les valeurs $\mathfrak{Z}_{N1}$ sont en excellente corrélation avec le logarithme de N ($r = 0,998$) lorsque $10^4 < N < 10^7$ et sont distribuées selon la droite de régression :

$$\mathfrak{Z}_{N1} = 0,479 \log N + 1,933 \quad (4)$$

Cette propriété permettra d'effectuer avec précision certaines extrapolations.

Par ailleurs, lorsque $q \geq 8$ on peut remarquer que les valeurs de $\mathfrak{Z}_{Nq}$ deviennent très proches des valeurs $\mathfrak{Z}$ données par la table de variable normale cumulée pour :

$$\pi(z) = 0,5 - \frac{q}{N} \quad (5)$$

Pour $q = 8$ et $N = 50, 100, 200$ et 400 , la différence entre ces deux valeurs n'excède pas $0,03$. Cette propriété sera également utilisée pour certaines approximations.

D. — *Calcul du nombre de loci favorables contenus dans la meilleure lignée obtenue après deux cycles successifs de F.U.P. ou d'haplométhode*

Nous respecterons les mêmes hypothèses et nous supposerons deux lignées homozygotes l_i et l_j issues du premier cycle possédant respectivement r_i et r_j loci favorables. Ces deux lignées seront croisées et notre but est de connaître l'espérance mathématique du nombre de loci favorables contenus dans la meilleure des N lignées obtenues à la fin d'un second cycle.

On peut définir trois groupes de loci dans les lignées l_i et l_j (fig. 1).

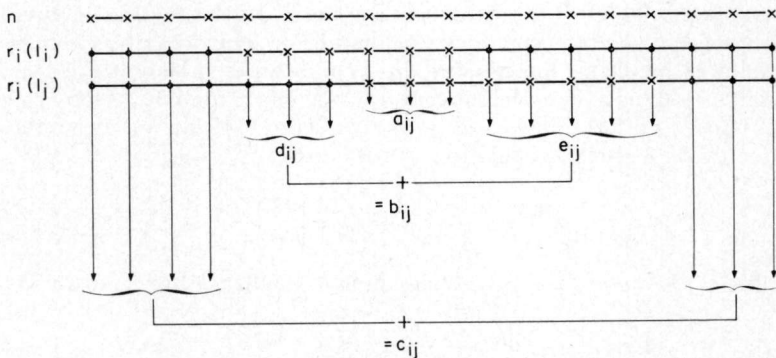


FIG. 1. — Différentes classes de loci contenus dans les lignées l_i et l_j issues d'un premier cycle de sélection

× loci favorables

• loci neutres

a_{ij} nombre de loci favorables communs aux deux lignées

b_{ij} nombre de loci différents dans les deux lignées

c_{ij} nombre de loci neutres communs aux deux lignées (favorables perdus)

n nombre total de loci en ségrégation dans la F_1

r_i nombre de loci favorables dans la lignée l_i

r_j nombre de loci favorables dans la lignée l_j .

1) a_{ij} loci favorables communs aux deux lignées qui ne ségrégeront plus dans la descendance du second croisement et que l'on peut considérer comme un capital définitivement acquis.

2) c_{ij} loci neutres communs qui peuvent être considérés comme le capital définitivement perdu dans le second cycle.

3) $b_{ij} = d_{ij} + e_{ij}$ loci différents qui s'égrèreront dans la descendance du second cycle comme les n loci dans le premier cycle.

Entre ces trois valeurs on peut définir les relations suivantes :

$$\begin{aligned} n &= a_{ij} + b_{ij} + c_{ij} \\ b_{ij} &= r_i + r_j - 2a_{ij} \\ a_{ij} + b_{ij} &= r_i + r_j - a_{ij} \end{aligned} \quad (6)$$

Étant donné que n est un nombre fini, les valeurs de a_{ij} et de c_{ij} sont distribuées selon une loi hypergéométrique de paramètres n , r_i et r_j .

L'espérance mathématique de la variable a_{ij} est :

$$E(a_{ij}) = \frac{r_i r_j}{n}$$

et celle de la variable c_{ij} :

$$E(c_{ij}) = \frac{(n - r_i)(n - r_j)}{n}$$

L'espérance mathématique du nombre de loci en ségrégation dans la descendance du second cycle peut être calculée à l'aide de la relation (6) :

$$E(b_{ij}) = r_i + r_j - 2 \frac{r_i r_j}{n} \quad (7)$$

On peut d'ailleurs remarquer que la variable b_{ij} est la somme de deux variables hypergéométriques d_{ij} et e_{ij} (fig. 1) et son espérance peut être calculée directement.

La valeur $E'(b_{ij})$ est l'espérance du nombre de loci favorables réunis effectivement, dans la meilleure lignée issue du second cycle, sur les $E(b_{ij})$ loci hétérozygotes contenus dans la F_1 de croisement $l_i \times l_j$ compte tenu de la dérive génétique.

Si N' lignées sont obtenues à la fin du cycle de sélection on aura, comme lors du premier cycle d'après les relation (3) et (7) :

$$E'(b_{ij}) = \frac{E(b_{ij})}{2} + \mathfrak{I}_{N'} \sqrt{\frac{E(b_{ij})}{4}} \quad (8)$$

et le nombre de loci favorables contenus dans la meilleure lignée en fin de second cycle :

$$E(r_{ij}) = E(a_{ij}) + E'(b_{ij}) \quad (9)$$

Les dérivées partielles de $E(r_{ij})$ par rapport à r_i ou r_j sont toujours positives lorsque r_i et r_j sont supérieurs à zéro. La fonction $E(r_{ij})$ croît donc avec r_i et r_j et le meilleur résultat sera donc obtenu en croisant les deux meilleures lignées en fin de premier cycle.

Le même raisonnement sera utilisé lorsque nous envisageons plusieurs cycles successifs de sélection.

II. — Résultats et discussions

A. — Influence des effectifs sur les résultats d'un premier cycle

L'espérance mathématique du nombre de loci favorables r contenus dans la meilleure des N lignées obtenues après un cycle de F.U.P. ou de H.D. a été calculée pour différentes valeurs de N et de n , le nombre de loci concernés par la ségrégation (tabl. 2).

TABLEAU 2

Espérances mathématiques du nombre de loci favorables contenus dans la meilleure lignée issue d'un cycle de sélection en fonction de l'effectif N de lignées obtenues par F.U.P. ou H.D. et du nombre n de loci en ségrégation

Effectif de lignées pures utilisées N	Nombre n de loci en ségrégation dans la descendance			
	10	20	40	100
25	8,1	14,4	26,2	59,9
50	8,6	15,0	27,1	61,3
100	9,0	15,6	27,9	62,6
200	9,4	16,1	28,7	63,8
400	9,7	16,6	29,4	64,9
800	10,0	17,1	30,1	65,9
1 000	10,0	17,2	30,2	66,2
5 000	10,0	18,2	31,6	68,4
10 000	10,0	18,6	32,2	69,2

On peut de la même manière calculer l'espérance du nombre de loci favorables présents dans chacune des q meilleures lignées de l'échantillon. Ce calcul a été fait pour $n = 40$, $n = 100$ et $N = 100$, 200 et 400 (tabl. 3).

TABLEAU 3

Espérances mathématiques du nombre de loci favorables contenus dans les p meilleures lignées issues d'un cycle de F.U.P. ou de H.D. en fonction de l'effectif N de lignées et du nombre n de loci en ségrégation

Rang des meilleures lignées p	n = 40			n = 100		
	N = 100	N = 200	N = 400	N = 100	N = 200	N = 400
1.	27,9	28,7	29,4	62,6	63,8	64,9
2.	26,8	27,6	28,4	60,8	62,1	63,3
3.	26,2	27,0	27,8	59,8	61,2	62,5
4.	25,7	26,6	27,5	59,0	60,5	61,9
5.	25,3	26,3	27,2	58,4	60,0	61,4
6.	25,0	26,0	27,0	58,0	59,6	61,0
7.	24,8	25,8	26,7	57,6	59,2	60,7
8.	24,5	25,6	26,6	57,2	58,9	60,4

Ces résultats montrent que l'on a d'autant plus de chance de cumuler un grand nombre de loci favorables dans la meilleure lignée que l'effectif N est grand, ce qui évidemment ne surprend pas.

Mais les performances dépendent également du nombre de loci n sous sélection : Pour $N = 800$ on a une quasi certitude de cumuler l'ensemble des loci favorables lorsque $n = 10$; alors que pour $n = 100$, on ne peut en réunir que 65,9 p. 100 dans la meilleure lignée. À la limite, on peut démontrer que quelque soit l'effectif, lorsque n tend vers l'infini, il n'y a plus aucune possibilité de sélection, d'où le rôle possible des linkats dans la sélection naturelle.

Lorsque le nombre de loci sous sélection devient grand, on peut constater la faible efficacité de la méthode même avec des effectifs importants : pour $n = 100$ et $N = 10\,000$, on ne peut espérer cumuler que 69,2 loci favorables dans la meilleure lignée.

Même en l'absence d'effet du milieu, la méthode pédigree ne fait pas mieux lorsqu'une forte proportion d'allèles favorables sont récessifs, puisque l'on n'est pas capable de juger, durant la phase d'augmentation de la consanguinité, la valeur réelle de ces lignées.

Par ailleurs, ces résultats mettent en évidence le faible gain génétique apporté par une augmentation des effectifs. Pour $n = 40$, l'utilisation d'un effectif de 400 lignées pures au lieu de 200, c'est-à-dire un doublement du coût de la méthode n'apporte qu'une espérance de 0,7 locus favorable supplémentaire dans la meilleure lignée, soit 1,75 p. 100 de la variabilité totale potentielle. Lorsque n augmente, ce gain s'amenuise : dans le cas où $n = 100$, même un décuplement des effectifs ($N = 1\,000$ au lieu de 100) et des coûts n'apporte que 3,6 loci favorables supplémentaires.

Étant donné que l'obtention des lignées pures par la F.U.P. ou par l'H.D. peut être coûteuse, il n'apparaît pas raisonnable d'augmenter outre mesure les effectifs. Un nombre de lignées $N = 100$ ou $N = 200$ permet d'obtenir la majorité des caractères oligogéniques à leur niveau maximal et des performances difficiles à améliorer sur les caractères fortement polygéniques. Autrement dit, les probabilités de transgression à la fin d'un premier cycle de F.U.P. ou de H.D. sont très limitées comme GALLAIS (1978) l'a fait remarquer.

B. — Efficacité de plusieurs cycles successifs

Les résultats obtenus après un premier cycle de F.U.P. ou d'haplométhode sont relativement modestes quel que soit l'effectif utilisé. Le premier cycle ne permet de cumuler au maximum dans la meilleure lignée qu'environ les $2/3$ des loci favorables pour des caractères fortement polygéniques avec un effectif raisonnable. On peut envisager pour améliorer ces résultats de recroiser entre elles les deux meilleures lignées et de recommencer un second cycle. On peut également envisager de faire plusieurs cycles de sélection récurrente l'intérêt en a été démontré par beaucoup d'auteurs dont GALLAIS (1977).

1) Résultats d'un second cycle de F.U.P.

Nous avons démontré que c'est en recroisant les deux meilleures lignées l_1 et l_2 que nous obtiendrons le meilleur résultat à la fin du second cycle d'effectif N' .

TABLEAU 4

Espérances mathématiques du nombre de loci favorables homozygotes $E(A_{12})$, du nombre de loci hétérozygotes $E(b_{12})$ dans la F_1 du second cycle et du nombre de loci favorables contenus dans la meilleure lignée à la fin d'un second cycle de F.U.P. ou d'H.D.

n	Effectifs $N = N'$	Nombre de gènes dans		Capital acquis $E(a_{12})$	Nombre de loci ségrégeant $E(b_{12})$	Nombre de loci dans la meilleure lignée $E(r_{12})$
		$l_1 = r_1$	$l_2 = r_2$			
20	50	15,0	14,1	10,6	8,0	17,7
	100	15,6	14,8	11,5	7,3	18,6
	200	16,1	15,4	12,4	6,7	19,3
	400	16,6	15,9	13,2	6,1	19,9
40	50	27,1	25,9	17,5	17,9	31,3
	100	27,9	26,8	18,7	17,3	32,6
	200	28,7	27,6	19,8	16,7	33,8
	400	29,4	28,4	20,9	16,1	34,8
100	50	61,3	59,3	36,4	47,9	68,1
	100	62,6	60,8	38,1	47,3	70,3
	200	63,8	62,1	39,6	46,7	72,3
	400	64,9	63,3	41,1	46,0	74,1

Comme nous l'avons vu, un certain nombre de loci favorables $E(a_{12})$ sont communs aux deux meilleures lignées et représentent un capital acquis dans le cycle suivant tandis que d'autres $E(b_{12})$ sont hétérozygotes dans la F_1 du croisement $l_1 \times l_2$. Cette dernière quantité subira comme précédemment une érosion importante liée à l'utilisation d'un effectif relativement faible.

Le tableau 4 donne les valeurs de $E(a_{12})$, et $E(b_{12})$ ainsi que $E(r_{12})$, le nombre total de loci favorables contenus dans la meilleure lignée obtenue en fin de second cycle. Les calculs ont été faits pour $n = 20, 40$ et 100 et pour les effectifs $N = N' = 50, 100, 200$ et 400 . Dans tous les cas l'approximation normale de la loi binomiale a été utilisée, mais celle-ci tend à surestimer les résultats pour de faibles valeurs de n ($n < 20$).

L'espérance du capital de loci favorables acquis ($E(a_{12})$) augmente avec l'effectif N utilisé.

L'espérance du nombre de loci hétérozygotes dans la F_1 du second cycle $E(b_{12})$ diminue lorsque les effectifs du premier cycle augmentent et lorsque n décroît. On peut démontrer que cette valeur est toujours telle que :

$$E(b_{12}) < \frac{n}{2} \quad \text{lorsque } r_1 \text{ et } r_2 < \frac{n}{2}$$

ce qui doit être le cas si les lignées l_1 et l_2 ont été bien choisies.

Il en résulte que la dérive génétique dans le second cycle est donc toujours plus faible que lors du premier cycle. On peut donc se contenter, en pratique, d'un effectif N' plus faible pour le second cycle de sélection récurrente. On peut également remarquer que là encore, un doublement des effectifs n'apporte pas un gain substantiel justifiant le doublement du coût de la méthode.

La comparaison des résultats bruts donnés par les deux méthodes envisagées n'a, en fait, que peu d'intérêt : il est évident qu'en deux cycles de sélection on obtiendra des résultats supérieurs à ceux obtenus en un seul cycle. L'intérêt de la comparaison réside dans le rapport des coûts entre les deux méthodes pour un même résultat génétique. Ce coût C est, en première approximation, proportionnel au nombre de cycles t et à l'effectif utilisé.

En d'autres termes, il faut poser la question : quel effectif N' aurait-il fallu utiliser dans un programme en un seul cycle pour obtenir les résultats acquis en

TABLEAU 5

Effectifs N' nécessaire dans un programme en un seul cycle pour obtenir le résultat acquis en deux cycles avec des effectifs $N = N'$ et rapport R_c des coûts entre les deux méthodes

$N = N'$	$n = 40$			$n = 100$		
	$E(r_{12})$	N'	R_c	$E(r_{12})$	N'	R_c
50	31,3	3 500	35	68,1	4 100	41
100	32,6	18 800	94	70,3	27 600	138
200	33,8	116 600	291	72,3	188 600	472
400	34,8	543 000	679	74,4	1 060 000	1 325

deux cycles? Il suffit de calculer $\tilde{N}_i$ puis N' par extrapolation à partir des relations 2 et 4. Le rapport des coûts Rc des deux méthodes peut ainsi être calculé. Les valeurs de N' et de Rc sont données dans le tableau 5 pour $n = 40$ et 100 et les effectifs $N = N' = 50, 100, 200$ et 400.

Nous voyons, lorsque $n = 40$, que pour obtenir une lignée cumulant 31,3 loci favorables, il faut soit un effectif de 3 500 lignées en un seul cycle, soit faire deux cycles successifs avec un effectif de 50 lignées. La méthode en un seul cycle est donc 35 fois plus coûteuse que la méthode plus lente en deux cycles. Ce rapport de coût augmente d'ailleurs considérablement avec N et n : il atteint une valeur de 1 325 pour $n = 100$ et $N = 400$, le résultat ne pouvant pas en pratique, être acquis en un seul cycle, puisqu'il faudrait obtenir plus de 10^6 lignées! C'est une autre démonstration de l'intérêt de la sélection récurrente.

Évidemment, la méthode en deux cycles de sélection est deux fois plus lente, mais ces exemples montrent que la rapidité en matière de création variétale est souvent trop onéreuse.

2) Résultats obtenus après plusieurs cycles successifs

La méthode en deux cycles donne un gain substantiel par rapport à la méthode en un seul cycle, mais néanmoins la méthode la plus coûteuse ($N = N' = 400$) ne permet de réunir que 85,5 p. 100 des loci favorables lorsque $n = 40$ et seulement 73,0 p. 100 lorsque $n = 100$.

Il est donc intéressant de voir quels gains on peut espérer en multipliant le nombre de cycles successifs de F.U.P. ou d'H.D. Parmi les différentes stratégies possibles, nous choisirons la plus simple pour illustrer notre propos. Les q meilleures lignées $l_1, l_2, \dots, l_i, l_j, \dots, l$ seront sélectionnées en fin de premier cycle et seront croisées deux par deux pour donner $\frac{q}{2} F_1$ et un second cycle composé de $\frac{q}{2}$ populations de lignées. La meilleure lignée obtenue en fin de second cycle dans chacune des séries est notée $(l_i \times l_j)^*$ et sera recroisée avec l'une de ses homologues pour donner le cycle suivant et ainsi de suite (fig. 2).

De façon à respecter les contraintes pratiques du sélectionneur nous avons défini une capacité N pour l'ensemble du programme. Ce sera l'effectif du premier et du dernier cycle de sélection. Par contre, pour les cycles intermédiaires, N sera la somme des effectifs de chacune des populations. Ainsi, si nous choisissons un programme en 4 cycles et une capacité totale $N = 400$, nous sélectionnerons les 8 meilleures lignées à la fin du premier cycle et nous aurons 4 populations d'effectifs $N'_{ij} = \frac{N}{4} = 100$ lors du second cycle et deux populations d'effectifs $N''_{ijkl} = \frac{N}{2} = 200$ lors du troisième cycle.

Le tableau 6 permet de comparer les résultats des méthodes en 1, 2, 3 ou 4 cycles pour $n = 40$ et $n = 100$ et une capacité de programme $N = 100, 200$ et 400 lignées.

Nous voyons, ici encore, qu'un cycle supplémentaire est beaucoup plus efficace qu'un doublement de l'effectif : la méthode la plus coûteuse en 4 cycles avec une capacité $N = 400$ permet de cumuler dans la meilleure lignée obtenue 87,9 p. 100 de loci favorables lorsque $n = 100$. Il aurait fallu obtenir environ $6,15 \times 10^{11}$ lignées pour espérer un tel résultat en un seul cycle!

Nous avons inclus dans ce tableau 6, une méthode en trois cycles, où la meil-

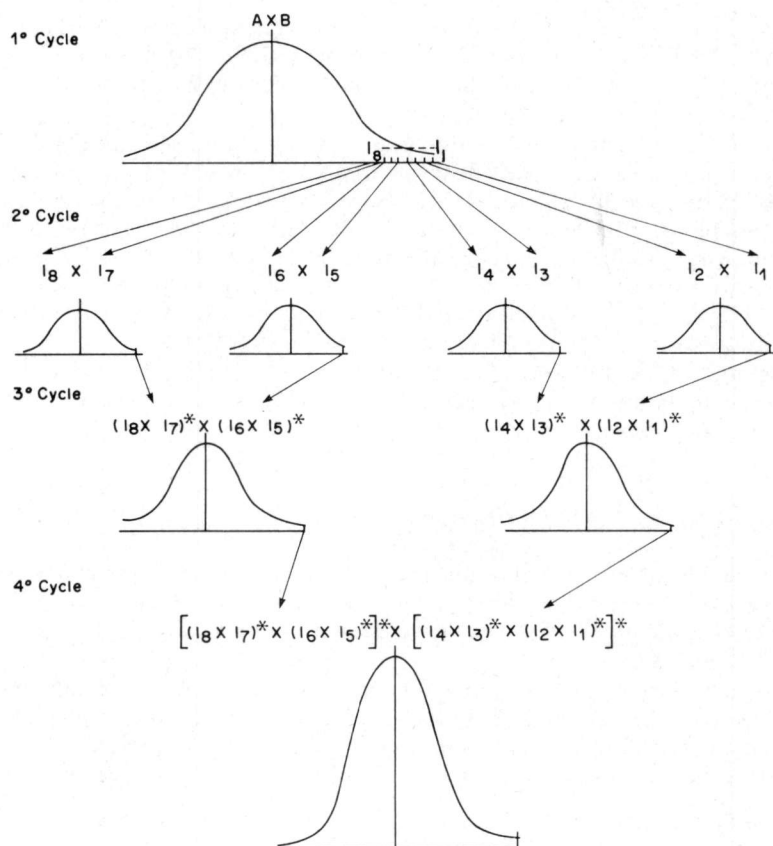


FIG. 2. — Schéma de sélection utilisant plusieurs cycles successifs.

TABLEAU 6

Espérances mathématiques du nombre de loci favorables contenus dans la meilleure lignée issue d'un programme de sélection faisant intervenir plusieurs cycles de F.U.P. ou d'H.D.

Schéma de sélection	Nombre de cycles	$n = 40$		$n = 100$		
		100	200	100	200	400
$(A \times B)^*$	1	27,9	28,7	62,6	63,8	64,9
$(l_1 \times l_2)^*$	2	32,6	33,8	70,3	72,3	74,1
$((l_1 \times l_2)^* \times l_3)^*$	3	34,4	35,8	73,5	75,9	78,1
$((l_1 \times l_2)^* \times (l_3 \times l_4)^*)^*$	3	36,0	37,5	76,5	79,4	81,9
$[((l_1 \times l_2)^* \times (l_3 \times l_4)^*)^* \times ((l_5 \times l_6)^* \times (l_7 \times l_8)^*)^*]^*$	4	38,2	39,7	81,6	84,9	87,9

leure descendance en fin de second cycle est croisée par la lignée l_3 du premier cycle. Cette méthode est à rejeter : son résultat est très inférieur à celui de la méthode suivante (78,1 contre 81,9 pour $n = 100$ et $N = 400$) alors que leur durée et leur coût sont identiques.

C. — Choix du nombre de cycles à effectuer

La multiplication du nombre de cycles de sélection donne des résultats intéressants mais l'efficacité de cette technique est limitée par deux causes évidentes.

1) L'élargissement de la population sélectionnée à la fin du premier cycle : à la limite, si nous recroisons deux à deux l'ensemble de toutes les lignées pures du premier cycle nous ne progressons pas, sauf dans les cas exclus par hypothèse, où il existe des liaisons génétiques défavorables ou des interactions épistatiques additive-additive.

2) Le nombre de loci favorables inclus dans le programme est un nombre fini : lorsqu'à la fin d'un cycle les n loci favorables ont été cumulés dans la meilleure lignée, un autre cycle devient évidemment inutile. Sans même aller jusqu'au cumul de tous les loci favorables dans une lignée, les gains apportés par chaque cycle supplémentaire s'amenuisent et le coût et la durée du programme risquent de devenir prohibitifs en regard des résultats obtenus. C'est tout le problème de la sélection récurrente lorsqu'il n'y a pas apport d'une nouvelle variabilité à chaque cycle. Un des intérêts du schéma de GALLAIS (1977) est de montrer comment doit se faire cet apport.

En effet, la variance additive et par conséquent l'héritabilité du caractère à sélectionner diminue à chaque cycle si le système est « fermé » et c'est en cela que notre schéma de sélection, partant d'un seul F_2 est critiquable. Il n'a donc en fait, qu'un intérêt limité et n'a été choisi que dans un but démonstratif pour nous placer dans le cadre du biallélisme. Les résultats seraient sans doute bien meilleurs avec un système « ouvert ».

Néanmoins, quelque soit le schéma de sélection adopté, les apports de nouvelle variabilité risquent de décroître (faute peut-être d'une recherche suffisante ou trop coûteuse) au fur et à mesure de l'évolution du programme et l'on risque à terme de se retrouver dans nos conditions. C'est en fait, le nombre n de loci à notre disposition qui conditionne le nombre de cycles à effectuer.

On peut théoriquement évaluer ce nombre lorsque les hypothèses posées sont respectées.

La moyenne de la valeur du caractère dans la population est :

$$\bar{X} = \frac{n}{2} d$$

et sa variance :

$$V = \frac{n}{4} d^2 + V_E$$

d étant la contribution identique de chaque locus et V_E la variance environnementale que l'on peut estimer si l'on a des répétitions.

L'estimation de n sera donc :

$$n = \frac{\bar{X}^2}{V - V_E}$$

Mais peut-on en pratique, attribuer à cette valeur n une signification génétique réelle? Elle est nécessairement sous-estimée puisque ce sont en fait des blocs chromosomiques qui ségrègent et non des loci. Par ailleurs, la contribution d de chaque locus et *a fortiori* de chaque bloc chromosomique, n'est pas identique. Cela tend encore à sous-estimer cette valeur n .

Au plus, peut-on espérer que cette valeur soit en corrélation avec la variabilité interne de la population, et si tel est le cas, elle pourra nous guider dans le choix du nombre de cycles à effectuer. Une vérification expérimentale et théorique semble cependant nécessaire.

D. — Importance des hypothèses restrictives et validité de l'utilisation pratique des résultats obtenus

Les hypothèses restrictives que nous avons faites au cours de cette étude sont :

- 1) l'absence de liaisons génétiques,
- 2) un nombre de générations infini par cycle dans le cas de la filiation unipare,
- 3) une contribution identique de chaque locus favorable à l'augmentation du niveau du caractère,
- 4) l'absence d'épistasie additive-additive,
- 5) l'absence de l'effet du milieu sur l'expression du génotype.

Voyons dans quelle mesure le non respect de ces hypothèses modifie nos résultats et nos conclusions.

1. Présence de liaisons génétiques

Si les liaisons génétiques sont assez faibles mais impliquent un grand nombre de loci intervenant sur l'expression du caractère, la distribution des lignées selon le nombre de loci favorables qu'elles contiennent peut être modifiée dans le sens d'un aplatissement positif ou négatif. Cela signifie que la variance génétique sera modifiée. Il faut qu'un grand nombre de loci soit concerné pour que la perturbation soit significative (FOUILLOUX, PRIEUR, non publié). Étant donné le nombre réduit de méioses efficaces, l'haplométhode risque d'être plus sensible à ce type de déviation que la filiation unipare.

Par contre, si les liaisons sont fortes et concernent, chacune, peu de loci, les linkats ainsi formés ségrègeront comme des gènes « majeurs ». La distribution des lignées selon leur nombre de facteurs favorables ne sera pas perturbée mais la contribution de chaque facteur à l'élévation du niveau du caractère risque de n'être plus identique.

2. Contribution non identique de loci favorables ou présence d'épistasie

Ces deux situations génétiques risquent de perturber le choix des meilleures lignées à recroiser. Les lignées les plus performantes ne seront pas toujours celles qui possèdent le maximum de loci favorables.

Au cours des premiers cycles de sélection on aura tendance à cumuler préfé-

rentiellement les loci ou les combinaisons épistatiques additive-additive jouant un rôle important dans l'expression du caractère. Cette situation est intéressante en début de programme puisque l'on accroît rapidement le niveau du caractère mais, on risque de perdre une partie de la variabilité génétique liée aux gènes mineurs et masquée par les gènes majeurs. Il est donc préférable dans ces conditions d'élargir la population de départ sur laquelle portera le schéma de sélection récurrente, ou mieux, d'apporter cette variabilité liée aux gènes mineurs par de nouvelles introductions au cours du programme.

Par ailleurs, POONT *et al.* (1977) ont démontré qu'en présence d'épistasie additive-additive, la distribution des lignées selon le niveau du caractère n'est plus normale, mais dissymétrique. Les valeurs des meilleures lignées peuvent donc être largement modifiées par rapport à celles que l'on a données.

3. Nombre fini de générations d'autofécondation par cycle dans le cas de la F.U.P.

La présence d'hétérozygotes ne perturbera la distribution des lignées selon le niveau du caractère que lorsque des interactions interalléliques (superdominance ou dominance préférentielle des allèles favorables ou neutres) seront présentes.

En fait, le nombre de loci hétérozygotes décroît très rapidement dans les lignées avec le nombre de générations d'autofécondation. En F_6 , lorsque $n = 100$, l'espérance mathématique du nombre de loci hétérozygotes n'est plus que de $\frac{100}{25} = 3,125$ et moins de 5 p. 100 de lignées possèdent plus de 6 loci à l'état hétérozygote en l'absence de liaison.

On peut donc se contenter d'un nombre relativement réduit de générations d'autofécondation par cycle, et aller au-delà de la F_6 est généralement non seulement inutile mais souvent néfaste lorsque les pertes de lignées sont importantes à chaque génération.

4. Influence du milieu sur l'expression du génotype

Les modifications apportées par le milieu sur l'expression du caractère peuvent conduire à des erreurs importantes dans le choix des meilleures lignées à recroiser. C'est là, l'une des difficultés essentielles de la sélection et un mauvais choix peut réduire les gains espérés lors de l'utilisation d'un schéma de sélection récurrente.

Les effets « additifs » du milieu peuvent être réduits en utilisant des dispositifs expérimentaux suffisamment précis. La F.U.P. ou l'H.D. présentent d'ailleurs un intérêt considérable sur la sélection généalogique puisque l'on n'est pas limité par la quantité des semences, les lignées « pures » pouvant être reproduites à volonté. Mais des essais précis sur un grand nombre de lignées peuvent être fort coûteux et le gain génétique final obtenu par une sophistication plus grande risque, là encore, de n'être pas en rapport avec l'accroissement des moyens. De toute façon, entre chaque cycle, il suffit d'utiliser un protocole d'essai donnant la précision nécessaire à l'isolement d'un groupe suffisamment petit des meilleures lignées. La taille de ce groupe dépend évidemment du schéma de sélection utilisé. Si malgré tout, la durée ou le coût des essais deviennent prohibitifs, il est toujours possible de réduire le groupe en pratiquant une série de croisements pyramidaux. Cette technique, dans la mesure où les hypothèses restrictives précédentes sont

respectées, diminue légèrement les gains, mais a l'avantage d'assurer une certaine sécurité (FOUILLOUX, non publié).

Par contre, les interactions génotype-milieu peuvent apporter un biais important dans le jugement des lignées, si celui-ci ne se fait pas dans les conditions où la variété future sera la plus généralement utilisée. On peut néanmoins estimer ces interactions génotypes-milieu en implantant des essais multilocaux et en tirer les informations nécessaires à la poursuite du programme. Il est à noter, en outre, comme semble l'avoir montré CASALI et TIBCHELAAR (1975b), que les interactions génotypes-milieu risquent d'être plus importantes pour les lignées pures issues de F.U.P. ou d'H.D. que pour les lignées pures issues de sélection généalogique. En effet, ces dernières sont jugées et sélectionnées chaque année sous des conditions de milieu sensiblement différentes et peuvent donc être plus « souples » vis-à-vis du milieu.

Si les hypothèses restrictives ne sont pas respectées, les résultats obtenus seront en pratique, généralement inférieurs à ceux donnés par le calcul numérique. Cependant, dans la mesure où la normalité de la distribution des lignées n'est pas trop affectée, ce non respect ne modifie pas nos conclusions quant aux effectifs réduits à utiliser. L'utilisation de l'H.D. ou de la F.U.P. comme méthode de formation des lignées pures présente, de plus, l'avantage de pouvoir tester cette normalité à la fin d'un cycle.

Par contre, le non respect des hypothèses peut diminuer gravement la qualité du choix des meilleures lignées à recroiser, c'est-à-dire celles qui possèdent le plus grand nombre de loci favorables et non pas nécessairement, celles qui expriment le caractère à son plus haut niveau. La présence de gènes majeurs, d'épistasie, d'effet aléatoire du milieu, peut perturber considérablement le choix et réduire à néant les gains espérés par la sélection récurrente.

Puisque vraisemblablement, le choix des lignées ne sera pas le meilleur possible, même en augmentant considérablement le coût de l'évaluation, on peut se demander quelle est la précision minimale nécessaire dans le choix pour ne pas gaspiller nos moyens.

Il est possible de déterminer cette limite lorsque nous utilisons un programme en deux cycles au lieu d'un seul. On peut, en première approximation considérer qu'un seul cycle de sélection avec un effectif $2N$ a le même coût qu'un programme en deux cycles avec un effectif N . Si ces deux schémas de sélection donnent un résultat maximal R identique, il n'y aura pas de gaspillage de nos moyens. Le problème est donc de déterminer la valeur $r_1 = r_2 = r$ du nombre de loci minimal contenu dans les deux lignées que nous recroiserons en fin de premier cycle pour obtenir un résultat R en fin de second cycle égal à celui que l'on aurait obtenu en un seul cycle de F.U.P. d'effectif $2N$. Il suffit pour cela, d'évaluer le résultat R en fonction de r et de n à l'aide des relations (6), (7), (8) et (9).

$$R = \mathfrak{Z}_{N_1} \sqrt{\frac{r \left(1 - \frac{r}{n}\right)}{2}} + r \quad (10)$$

La valeur minimale de r est alors donnée par la racine positive de l'équation qui découle de l'expression (9)

$$r^2 \left(1 + \frac{\mathfrak{Z}_{N_1}^2}{2n}\right) - r \left(2R + \frac{\mathfrak{Z}_{N_1}^2}{2}\right) + R^2 = 0.$$

Connaissant cette valeur r on pourra déterminer la valeur

$$\mathfrak{Z}_{N_x} = \frac{r - \frac{n}{2}}{\sqrt{\frac{n}{4}}}$$

et une valeur approchée du taux de sélection maximal $\frac{q}{N}$ à l'aide d'une table de variables normales réduites cumulées, et de la relation (5).

Ce calcul a été fait pour $n = 40$ et $n = 100$ avec des effectifs $N = 50, 100$ et 200 .

TABLEAU 7

Valeurs minimales r du nombre de loci favorables contenus dans les lignées à recroiser pour assurer un progrès en fin de second cycle et taux de sélection maximal (T.S.M.)

n	N	R	r	T.S.M.
40	50	27,9	23,0	0,166
	100	28,7	23,2	0,160
	200	29,4	23,3	0,144
100	50	61,3	53,3	0,254
	100	62,6	53,7	0,226
	200	63,8	54,1	0,211

Le taux de sélection maximal est relativement important (de l'ordre de 1/5). Pour $n = 100$ et $N = 200$ on peut encore recroiser les 44^e et 45^e lignées classées selon le nombre décroissant de loci favorables qu'elles contiennent pour obtenir un résultat supérieur à celui d'un seul cycle de 400 lignées.

Ce taux de sélection maximal diminue lorsqu'on accroît les effectifs et lorsque le nombre de loci sous sélection est plus faible. Le choix des lignées à recroiser doit donc être fait avec d'autant plus de précision que le programme est avancé.

Un manque de précision dans le choix des lignées à recroiser, c'est-à-dire dans l'évaluation du nombre de loci qu'elles contiennent, soit à cause de l'influence du milieu, soit à cause de la structure génétique du caractère, a généralement pour conséquence la diminution de la valeur du résultat final. Néanmoins, la latitude suffisamment grande dans le choix des lignées en fin de cycle doit permettre, dans beaucoup de cas, de garder à la sélection récurrente tout son intérêt malgré le non respect des hypothèses.

E. — Critique du schéma de sélection étudié

Comme nous l'avons déjà dit, le schéma de sélection sur lequel a porté le calcul numérique est évidemment trop simple et n'a que peu de rapport avec la réalité d'un programme. Il ne considère qu'un seul caractère, il n'y a pas apport de nouvelle variabilité, il suppose que l'on recroise toujours les meilleures lignées « pures ».

Tout programme implique la sélection simultanée de plusieurs caractères. Il faudra donc augmenter d'autant les effectifs ou, à effectif égal, limiter nos ambitions. L'adjonction, par exemple, d'un caractère monogénique à sélectionner, nécessite un doublement de l'effectif pour obtenir le même résultat sur le caractère polygénique si nous désirons cumuler ces deux attributs.

Remarquons d'ailleurs que, l'analyse de l'échantillon de lignées pures obtenues par la F.U.P. ou de l'H.D. peut donner des informations précieuses au sélectionneur : il peut détecter des liaisons génétiques ou physiologiques existant entre les caractères sous sélection, que ceux-ci soient qualitatifs ou quantitatifs; il peut également estimer les fréquences d'obtention d'un niveau donné pour chacun des caractères et définir plus précisément ses ambitions et l'effectif nécessaire lors du cycle suivant. Néanmoins, si le nombre de caractères oligogénique et fortement héritable en ségrégation dans les descendance est relativement important, il sera sans doute plus efficace, dans un premier temps, d'utiliser la méthode pedigree.

Par ailleurs, nous n'avons pas prévu dans ce schéma l'introduction de nouvelle variabilité afin de rester dans l'hypothèse du biallélisme. Ce schéma ne peut donc être proposé pour améliorer, à long terme, le matériel de base mais peut à la rigueur convenir pour la création variétale à court terme. Néanmoins, dans ce dernier cas, si le système reste « fermé », il apparaît judicieux de diminuer progressivement les effectifs au cours des cycles successifs puisque le nombre de loci sous sélection diminue de plus de la moitié d'un cycle au cycle suivant.

En ce qui concerne la F.U.P. nous n'avons considéré que l'évaluation et le recroisement de lignées suffisamment « pures ». Ce n'est pas obligatoirement comme le pense GALLAIS (1978), la méthode qui maximise le mieux les gains en fonction des moyens utilisés. Selon le déterminisme génétique du caractère, en particulier de sa dominance et de son héritabilité au sens strict, le recroisement de lignées moins avancées est peut-être plus efficace. A la limite, une série de croisements pyramidaux intercalée entre deux cycles avec ou non sélection des F_1 peut être également plus efficace et, comme nous l'avons vu, résoud en partie le problème du manque de précision dans le choix des lignées.

Conclusion

Malgré les lourdes hypothèses restrictives posées pour permettre le calcul numérique et le schéma de sélection simpliste que nous avons adopté, il semble que nos conclusions restent valables dans la généralité des cas :

— Il n'est pas utile d'utiliser un effectif pléthorique au cours d'un cycle de sélection pour l'amélioration d'un ou plusieurs caractères. L'augmentation des coûts de la méthode n'est pas alors justifiée par le gain génétique supplémentaire obtenu.

— Il vaut mieux utiliser des effectifs réduits, mais prévoir plusieurs cycles

de sélection. Lorsqu'un caractère est très polygénique, même avec des effectifs très faibles (de l'ordre de 50), les résultats obtenus à la fin de plusieurs cycles de sélection, sont incomparablement supérieurs à ceux obtenus à la fin d'un seul cycle avec un effectif pléthorique, et cela même, s'il existe quelques imprécisions dans le choix des génotypes à recroiser.

Par ailleurs, nous avons signalé que les échantillons de lignées pures obtenus par F.U.P. ou par H.D. fournissent aux sélectionneurs des informations utiles sur les caractères sous sélection : certains éléments, du déterminisme génétique des caractères, la fréquence d'obtention d'un niveau de caractère donné, la possibilité d'étudier les liaisons entre différents caractères ou d'estimer l'influence du milieu. Ces propriétés de l'échantillon, alliées à la rapidité d'obtention des lignées pures et à la faible influence d'un effectif relativement réduit, peut permettre chez certaines espèces, d'envisager l'utilisation de la F.U.P. ou de l'H.D., non seulement pour la création variétale, mais également pour la prévision des résultats donnés par une population ou l'analyse de l'efficacité de certaines pratiques utilisées en sélection, par exemple, l'efficacité d'un tri sur les F_2 .

On peut donc dire, que dans une certaine mesure, l'utilisation de la filiation unipare ou de l'haplométhode réconcilie le généticien et le sélectionneur de plantes autogames : le matériel obtenu pour la création variétale ou l'amélioration de la population de base, se prêtent également à des analyses qualitatives et quantitatives précises, ce que ne permet pas l'utilisation des méthodes pedigree ou bulk.

Reçu pour publication en avril 1979.

Summary

Size of the population and number of breeding cycles to be used for the creation of "pure" line varieties from F_1 through Single Seed Descent and Haploid methods

Our first aim is to study the influence of the number of pure lines obtained by Single Seed Descent Method (S.S.D.) or by Haploid method on the results of a breeding cycle. Our second aim is to appreciate the gain obtained through several breeding cycles.

Techniques of numerical calculation are used and described. It is necessary to admit a few restrictive hypothesis in order to have a binomial distribution of pure lines at the end of each cycle:

- 1) no linkage,
- 2) identical contribution of every favourable locus to increase the character level and no additive-additive epistatic interaction,
- 3) infinite number of self-pollination generation by cycle, when using Single Seed Descent Method,
- 4) no environmental effect.

Under these conditions, the results obtained after one breeding cycle are modest when we select a highly polygenic character. In the best case, only about two thirds of favourable loci may be cumulated in the best pure line if a reasonable number of lines is obtained. For instance, if we have $n = 40$ loci under selection in the progeny of a cross, and $N = 200$ pure lines obtained by Haploid method or S.S.D., only a mean of 28,7 favourable loci could be cumulated in the best line. For the same population N , if we have $n = 100$ loci, the best line contains 63,7 favourable loci.

It is very expensive to improve these results by increasing the size of the population of pure lines. For $n = 40$, when $N = 400$ pure lines are used instead of $N = 200$, i.e. doubling the population, and also doubling the cost of this method, the result only increases of 0,7 gene. A number of $N = 200$ pure lines is large enough to maximise a highly polygenic character in a homozygous line with one breeding cycle.

On the contrary, programmes using several successive breeding cycles with S.S.D. Haploid

method give very good results even when using a small population of pure lines for each cycle. With two successive breeding cycles, when $n = 40$ and $N = 200$, the best line cumulates a mean of 33,8 favourable loci i.e. a progress of 5,1 genes. To obtain the same result with one cycle programme it should be necessary to use a population of more than 116 600 pure lines, i.e. the one-cycle method is 291 times more expensive than the two-cycle one. With $n = 100$ and $N = 200$ for a method with four successive breeding cycles, 87,9 favourable loci can be cumulated in the best pure line. The recurrent methods should be preferred when the aim is to maximise the level of a highly polygenic character.

The validity of the practical application of these results is also discussed according to non-respect these hypothesis. A high precision is not necessary in the choice of lines used as parents of a new cycle. When the hypothesis are respected, it is enough to choose the two lines in the fifth upper part of the population, to get a good economic result in the following cycle. This relatively large margin allows some non-respect of the hypothesis.

Références bibliographiques

- BOERMA H. R., COOPER R. L., 1973. Comparison of three selection methods for yield in soybeans (in *Agron. Abstr.*, 1973 Annual Meeting, Division C1, p. 3).
- BRIM C. A., 1966. A modified pedigree method of selection in soybeans. *Crop Sci.*, **6**, 220.
- CASALI V. W. D., TIGCHELAAR E. C., 1975 a. Breeding progress in Tomato with pedigree selection and single seed descent. *J. Amer. Soc. hort. Sci.*, **100** (4), 362-364.
- CASALI V. W. D., TIGCHELAAR E. C., 1975 b. Computer simulation studies comparing pedigree, Bulk, and Single seed descent selection in self pollinated population. *J. Amer. Soc. hort. Sci.*, **100** (4), 364-367.
- FISHER R. A., YATES F., 1949. *Statistical tables for biological and medical research*. Oliver and Boyd, London, p. 112.
- FOUILLOUX G., 1977. Problèmes spécifiques à la formation des lignées diploïdes des légumineuses maraîchères. *TDR** (1-1978). 58-75.
- FOUILLOUX G., 1978. Méthodes permettant l'accélération des processus de sélection chez les plantes potagères. *Sélect. fr.*, **25**, 9-19.
- GALLAIS A., 1977. Amélioration des populations, méthodes de sélection et création de variétés. I. — Synthèse sur les problèmes généraux et sur les bases théoriques pour la sélection récurrente intra population. *Ann. Amélior. Plantes*, **27** (3), 281-329.
- GALLAIS A., 1978. Place de l'haploïdie dans un schéma de sélection. *Sélect. fr.*, **26**, 39-49.
- GOULDEN C. H., 1939. Problems in plant selection. *Proc. 7th Genet. Cong.*, Cambridge University, 132-133.
- GRIFFING B., 1975. Efficiency changes due to use of Doubled Haploids in Recurrent Selection Methods. *Theor. appl. Genet.*, **46**, 367-386.
- KENDALL M. G., 1945. *The advanced theory of statistics*. Charles Griffin and Co, London, 457 + 521 p.
- LEFORT G., 1967. *Mathématiques pour les sciences biologiques et agronomiques*, Librairie Armand Colin, Paris, 255 p.
- NEI M., 1963. The efficiency of haploid method of plant breeding. *Heredity*, **18**, 95-100.
- PARK S. J., WALSH E. J., REINBERGS E., SONG L. S. P., KASHA J., 1976. Field performance of doubled haploid barley lines in comparison with lines developed by pedigree and single seed descent methods. *Can. J. Plant Sci.*, **56**, 467-474.
- POONI H. S., JINKS J. L., CORNISH M. A., 1977. The cause and consequences of non-normality in predicting the properties of recombinant inbred lines. *Heredity*, **38**, 3, 329-332.
- RIGGS T. J., HAYTER A. M., 1975. Practical aspects of single seed descent method in Barley breeding. *Proceedings of 3th Intern. Barley Genet. Symp.*, Garching 7-12 July 1975, 708-717.
- SNAPE J. W., RIGGS T. J., 1975. Genetical consequences of single seed descent in the breeding of self-pollinising cross. *Heredity*, **35** (2), 211-219.
- SNAPE J. W., 1976. A theoretical comparison of diploised haploid and single seed descent populations. *Heredity*, **36** (2), 275-277.

* TDR, Bulletin de liaison interne du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes de l'I.N.R.A., a une circulation restreinte; une copie de l'article cité peut être obtenue en s'adressant au Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes, 11, rue Jean Nicot, 75007 Paris, ou à l'auteur.

Création et description d'une plante haploïde de Pommier (*Malus pumila* Mill.)

Y. LESPINASSE et Marie GODICHEAU

Station d'Arboriculture fruitière
Centre de Recherches d'Angers, I.N.R.A.
Beaucouzé, 49000 Angers

Résumé

Une plante haploïde d'origine maternelle, a été détectée dans la descendance issue de la pollinisation de la variété de pommier "Topred delicious", $2n = 34$ par un type à feuillage rouge (issu de *Malus pumila niedzwetzkyana*), dont la couleur est sous la dépendance d'un gène dominant R, utilisé comme marqueur. Cet haploïde, $2n = 17$, présente une faible vigueur, sa tige est grêle, ses feuilles petites. Nous avons pu le multiplier par greffage.

Introduction

La création d'haploïdes devrait permettre de progresser dans la connaissance de l'espèce, et de fournir après doublement chromosomique un matériel homozygote jamais obtenu chez le Pommier. En effet, les plantes haploïdes constituent certainement le meilleur matériel pour étudier le caryotype chez cette espèce au nombre de base élevé ($x = 17$) dont les chromosomes sont très petits et difficilement observables (LESPINASSE et SALESSES, 1973); en outre, l'étude des appariements à la méiose permettrait de préciser les homologues entre chromosomes ou entre différentes parties du génome et d'éclairer les hypothèses avancées quant à l'origine des Pomoïdées : origine autopolyploïde à partir des Rosoïdées (DARLINGTON et MOFFETT, 1930) ou des Prunoïdées (SAX, 1931), origine allopolyploïde à partir de formes ancestrales de Rosacées (SAX, 1933) à la suite d'hybridations entre les formes primitives de Spiraeoïdées ($x = 9$) et de Prunoïdées ($x = 8$) (STEBBINS, 1950).

D'autre part, le Pommier est une espèce à multiplication végétative qui se prête bien à une amélioration par mutagenèse. De nombreux mutants ont déjà été obtenus par irradiation aux rayons gamma du cobalt 60 (DECOURTYE et LANTIN, 1971). La mutagenèse sur plantes haploïdes permettrait d'élargir la

gamme de mutants en particulier par la mise en évidence de toutes les mutations récessives.

Enfin, la création de géniteurs homozygotes par doublement du nombre de chromosomes peut faciliter l'étude et l'amélioration de l'espèce.

Matériel et méthodes

Nous disposions d'un clone dont la couleur rouge (feuilles, tiges et fruits) est sous le contrôle d'un gène dominant R à l'état homozygote (DECOURTYE, 1967) : c'est un hybride de deuxième génération dont les parents sont issus du croisement *Malus pumila niedzwetzkyana* $\times$ *Malus pumila* variété « Jonathan ».

Nous avons fait fleurir sous abri étanche en présence d'abeilles, quatre variétés de phénotype vert (*rr*) et ce clone de phénotype rouge (*RR*). Un seul couple a été isolé en 1975 avec la variété verte « Golden delicious » type spur. En 1976, trois couples ont été isolés « Wellspur delicious », « Redspur delicious » et « Topred delicious ». Ces trois variétés sont des mutants ayant pour origine commune la variété « Delicious ».

Parmi les descendants, il est facile dès la germination de repérer les individus à feuillage vert, *a priori* d'origine maternelle. Parmi ceux-ci, on pouvait espérer trouver des individus haploïdes, résultant du fonctionnement parthénogénétique de l'une des cellules du sac embryonnaire.

Les dénombrements chromosomiques ont été effectués sur des cellules issues de méristèmes primaires de racines (LESPINASSE et SALETTES, 1973).

Résultats

Au total, 9 969 plantules ont été observées, dont 635 vertes : le pourcentage de ces dernières est de 2,5 p. 100 avec la variété « Golden delicious » type spur et de 9,6 p. 100 en moyenne pour les 3 mutants de la variété « Delicious » (tabl. 1).

Les dénombrements chromosomiques ont été effectués en priorité sur les plantules vertes présentant un phénotype particulier : tige grêle, feuilles étroites ou difformes, entre-nœuds très courts. Un seul haploïde a été isolé parmi ces individus (tabl. 2). Le dénombrement chromosomique des 116 individus à phénotype vert issus de « Golden delicious » type spur et d'un échantillon de 186 semis issus des 3 autres variétés a révélé une proportion importante de triploïdes, 12,1 p. 100 et 3,2 p. 100 respectivement.

Le seul haploïde isolé est issu de la variété « Topred delicious ». Il présente une tige grêle, des feuilles petites et étroites, une croissance lente (fig. 1). De par sa morphologie, il se différencie très facilement de ses frères diploïdes ou triploïdes. Après deux années de croissance en serre, sa hauteur atteint 70 cm. Des essais de greffage d'apex en croissance et à œil dormant ont été effectués sur des porte-greffes issus de semis. Après plusieurs échecs, trois greffes à œil dormant ont été réussies en 1979.

De nombreux apex racinaires ont été prélevés sur ce semis haploïde pour dénombrement chromosomique. Toutes les cellules étudiées possédaient 17 chromosomes (fig. 2).



FIG. 1. — *Le semis haploïde après 5 mois de croissance en serre.*

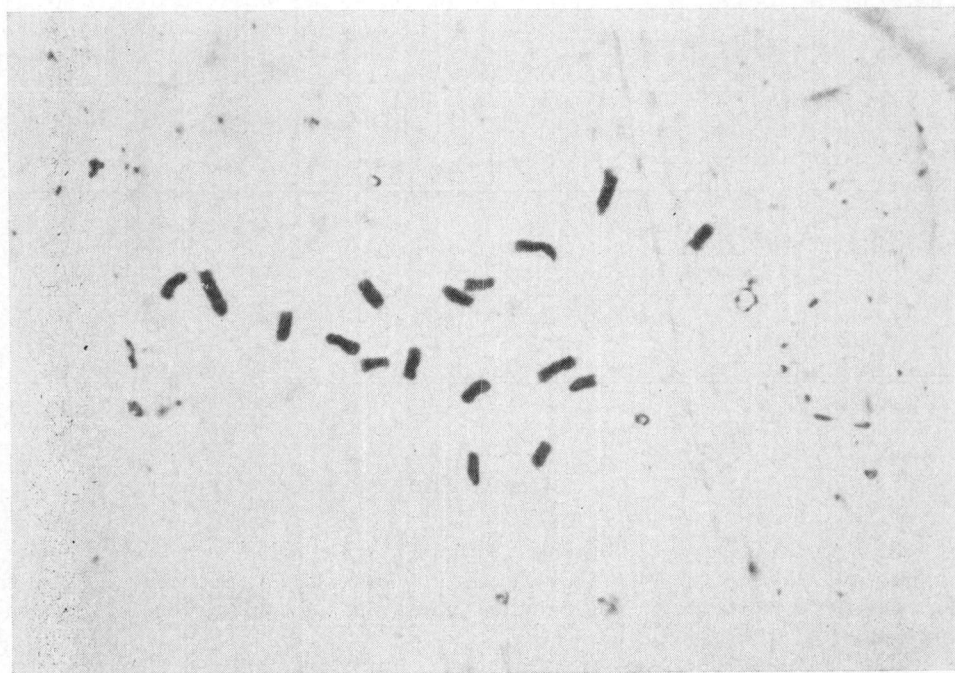


FIG. 2. — *Cellule haploïde à 17 chromosomes provenant d'un apex racinaire ($\times 2250$).*

TABLEAU I
Résultats de l'étude des descendance

Pollinisation	Nombre total de semis	Nombre et pourcentage de plantules à phénotype vert	
Semis de 1976.			
1. "Golden spur" × TNR 31-35 (RR) . . .	4 552	116	2,5 %
Semis de 1977.			
2. "Wellspur" × TNR 31-35 (RR)	2 478	262	10,6 %
3. "Redspur" × TNR 31-35 (RR)	1 696	135	8,0 %
4. "Topred" × TNR 31-35 (RR)	1 243	122	9,8 %
	5 417	519	9,6 %

TABLEAU 2
Dénombrement chromosomique chez les plantules à phénotype vert

Croisement	Effectifs de plantules vertes étudiées	Nombre de chromosomes				
		Plantules vertes à croissance faible			Plantules vertes à croissance normale	
		2n = 17	2n = 34	2n = 35	2n = 34	2n = 51
1	116 (total)	—	—	—	102	14 (12,1 %)
2	66 (échantillon) . . .	—	7	5	52	2
3	73 (échantillon) . . .	—	9	—	62	2
4	47 (échantillon) . . .	1	—	2	42	2
	186	1	16	7	156	6 (3,2 %)

Discussion

A notre connaissance, l'obtention d'haploïdes de pommier n'a été signalée qu'une fois, par EINSET (1945). Ce chercheur mentionne en effet deux haploïdes lors de dénombrements chromosomiques parmi les descendants en fécondation libre de deux variétés triploïdes.

Ces haploïdes n'ont pas survécu, un seul aurait été conservé quelques mois en pépinière (PRATT, 1977).

La plante haploïde que nous avons isolée est la première à avoir été obtenue à partir d'une variété diploïde. Elle ne peut provenir que du développement parthénogénétique de l'une des cellules du sac embryonnaire. Les semis frères diploïdes à phénotype vert, apparus dans la même descendance ne sont pas d'origine apomictique, car ils montrent à l'âge de trois ans des différences de port, de vigueur, de longueur d'entre-nœuds et de morphologie des feuilles. Ces semis sont donc d'origine sexuée. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer leur formation :

1. — Complexité du gène marqueur *R*

On observe parmi les plantules à phénotype rouge des différences dans l'intensité de la couleur du feuillage et de la section des rameaux. Chez les descendants à phénotype rouge de *Malus pumila niedzwetzkyana*, ZWINTSCHER (1973) considère trois classes de fruits suivant l'intensité de la pigmentation de la chair. Cette variation peut traduire une expression modulée du gène *R* suivant le contexte génotypique.

Il paraît toutefois difficile d'admettre que tous les individus à phénotype vert sont des hybrides où le gène *R* reste muet. Il se pourrait plus simplement que le phénotype rouge soit sous la dépendance de deux gènes liés R_1 et R_2 à effets additifs. Si l'on attribue à l'hybride TNR 31-35 le génotype $\frac{R_1 r_2}{r_1 R_2}$, des gamètes recombinés $r_1 r_2$ ont pu apparaître et conduire à des semis à phénotype vert dont le nombre dépendra de la distance entre les deux gènes. Dans cette hypothèse, il est étonnant de constater que la proportion des individus verts est bien différente entre les semis de 1976 et ceux de 1977 (2,5 p. 100 et 9,6 p. 100 respectivement). On ne peut guère expliquer de cette façon que l'origine d'une partie des individus à phénotype vert.

2. — Autofécondation de la variété femelle

Cette hypothèse est peu probable : en effet, l'allopollen présente un avantage considérable sur l'autopollen et les variétés du groupe « Delicious » sont connues pour être quasiment auto-incompatibles. De plus, les plantes obtenues ne présentent aucun effet notable de perte de vigueur par rapport aux frères à phénotype rouge.

3. — Formation de noyaux de restitution au cours de la méiose

La vigueur normale des diploïdes à phénotype vert exclut l'hypothèse d'une endomitose dans une cellule haploïde du sac embryonnaire. Par contre, la formation de noyaux de restitution à $2n$ chromosomes au cours de la méiose est une explication possible. En effet, un tel processus doit pouvoir, dans quelques cas particuliers, conduire à des individus diploïdes d'origine maternelle et donc à phénotype vert et différents de la plante mère du fait de la recombinaison génétique. Il est vraisemblable que le génotype de la variété femelle ainsi que les conditions climatiques lors de la méiose et de la fécondation jouent un rôle important dans la formation de noyaux de restitution; on pourrait ainsi expliquer la variation du pourcentage d'individus à phénotype vert entre les expériences de 1976 et de 1977.

La proportion de triploïdes que nous observons parmi les individus à phénotype vert est de 12,1 p. 100 pour les semis de 1976 et de 3,2 p. 100 pour ceux de 1977 (tabl. 2). Or, EINSET (1952), lors du dénombrement chromosomique de 6 825 plantules issues de plusieurs croisements entre variétés diploïdes n'a isolé que 19 triploïdes (1 pour 359). Cette différence est difficilement explicable, nous n'avons pas étudié la fréquence des triploïdes chez les descendants à phénotype rouge.

Conclusion

L'obtention d'une plante haploïde de Pommier est un premier résultat. Pour juger de l'intérêt des haploïdes chez cette espèce, en particulier pour les programmes de sélection en cours, il serait nécessaire d'en obtenir un nombre élevé. En attendant que l'androgénèse *in vitro* soit au point pour le Pommier (MILEWSKA-PAWLICZUK et KUBICKI, 1977), la multiplication végétative de l'unique individu obtenu à ce jour va nous permettre d'étudier l'aptitude au doublement, la possibilité de floraison et la réponse à un traitement mutagène.

Reçu pour publication en février 1980.

Summary

Obtention and description of one haploid Apple-tree (Malus pumila Mill.)

A maternal haploid has been detected in the progeny coming from "Topred delicious" apple variety, $2n = 34$, pollinated with a red leave type (derived from *Malus pumila niedzwetzkyana*) which colour is controlled by a dominant gene, R, used as a marker. This haploid, $2n = 17$, has a bad vigour, its stem is slender, its leaves small. We have been able to propagate it through grafting.

Références bibliographiques

- DARLINGTON C. D., MOFFETT A. A., 1930. Primary and secondary chromosome balance in *Pyrus*. *J. Genet.*, **22**, 129-151.
- DECOURTYE L., 1967. Étude de quelques caractères à contrôle génétique simple chez le Pommier (*Malus* sp.) et le Poirier (*Pyrus communis*). *Ann. Amélior. Plantes*, **17** (3), 243-265.
- DECOURTYE L., LANTIN B., 1971. Considérations méthodologiques sur l'isolement de mutants provoqués chez le Pommier et le Poirier. *Ann. Amélior. Plantes*, **21** (1), 29-44.
- EINSET J., 1945. The spontaneous origin of polyploid apples. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **46**, 91-93.
- EINSET J., 1952. Spontaneous polyploidy in cultivated apples. *Proc. Amer. Soc. hort. Sci.*, **59**, 291-302.
- LESPINASSE Y., SALETTES G., 1973. Application de techniques nouvelles à l'observation des chromosomes chez les genres *Malus* et *Pyrus*. *Ann. Amélior. Plantes*, **23** (4), 381-386.
- MILEWSKA-PAWLICZUK E., KUBICKI B., 1977. Induction of androgenesis *in vitro* in *Malus domestica*. *Acta Hort.*, **78**, 271-276.
- PRATT Ch., 1977. (Communication personnelle).
- SAX K., 1931. The origin and relationship of the Pomoideae. *J. Arnold Arboretum*, **12**, 3-22.
- SAX K., 1933. The origin of the Pomoideae. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **30**, 147-150.
- STEBBINS G. L., 1950. *Variation and evolution in plants*, Columbia University Press N.Y., p. 361.
- ZWINTSCHER M., 1973. *Malus pumila* var. *niedzwetzkyana* and its role in apple breeding. *Proc. EUCARPIA fruit Sect. Symp. V. Top fruit breed.*, Canterbury, sept. 11-14, 1973, 154-159.

Equilibria of populations with selection and mixed selfing and random mating - with some implications for plant breeding

M. HUHN

*University Kiel | Institute for Crop Science and Plant Breeding,
Federal Republic of Germany*

Summary

A study of the theoretical foundations of different variety-structures for partially allogamous species utilizing positive competitive effects between neighbouring plants — especially between homozygotes and heterozygotes — is of essential importance for plant breeding purposes. Therefore the existence and the properties of nontrivial population genetic equilibria of such populations with mixed selfing and random outcrossing like open pollinated varieties, but also with composite varieties and synthetic varieties and even with some special aspects of semi-hybrid-varieties turn out to be of special interest. These problems were investigated theoretically for a monogenic trait — *i.e.* for the simplest genetic model: one locus, two alleles A and a.

The main question of this population genetic study concerned the dependence of 1) the gene frequency $\hat{p}$ of A at equilibrium, 2) the mean $\hat{\mu}$ of the equilibrium population and 3) the time $\hat{t}$ until reaching this equilibrium on the selfing-rate s , the selection-coefficient u , the dominance-factor h ($1 + u$, $1 + hu$ and 1 are the fitness-values of the genotypes AA, Aa and aa) and the composition of the initial population.

Some of the main results are: 1) Nontrivial equilibria ($\hat{p} \neq 0$, $\hat{p} \neq 1$) are only existing for $h > 1$ (overdominance). 2) $\hat{p}$ increases with increasing s and for large s -values: fixation of A-allele ($\hat{p} = 1$). 3) All parameters at equilibrium ($\hat{p}$, $\hat{t}$ and $\hat{\mu}$) are nearly independent on the composition of the initial population. 4) $\hat{\mu}$ increases with increasing u (for each s). 5) $\hat{\mu}$ decreases with increasing s (for each u). 6) There are maxima of $\hat{t} = \hat{t}(s)$ in the case of overdominance — located at increasing s for increasing u . 7) $\hat{t}$ decreases with decreasing dominance (for each s).

The main conclusion from these theoretical results for the population mean at equilibrium, which is of most importance for practical plant breeding, can be summarized as follows: Because of the maxima of $\hat{t} = \hat{t}(s)$ for $h > 1$ and large s (for all u) and the shape of $\hat{\mu} = \hat{\mu}(s)$ highest $\hat{\mu}$ in the shortest time can be only realized by highest u and lowest s .

1. — Introduction

The study of breeding methods with partially allogamous species as well as discussing problems of optimal variety-structure (for example : synthetic varieties, composite varieties, mixed crops consisting of inbred lines with their F_1 s, semi-hybrid varieties) leads to an investigation of the equilibrium-composition of such populations with mixed selfing and random outcrossing. This implies an analysis of the existence and properties of nontrivial population genetic equilibria, then : To avoid yield-decreases as a consequence of still changing genotypic compositions of the populations it would be necessary to obtain a variety-composition which reaches the maximum yield nearly at the population genetic equilibrium.

A somewhat detailed discussion of the theoretical basis of these problems at first shall be given for the simple example of a monogenic trait (1 locus-2 alleles-case). Generalizations of these models and results to quantitative characters with polygenic inheritance — which are of main interest in agricultural plant breeding — are in preparation.

2. — Theory

Definitions and notations

1 locus with 2 alleles A and a.

genotypes AA ($i = 1$), Aa ($i = 2$) and aa ($i = 3$).

p_n = frequency of allele A in generation n

q_n = frequency of allele a in generation n

$w_i^{(n)}$ = fitness of genotype i in generation n

$x_i^{(n)}$ = frequency of genotype i in generation n

$x_i^{(0)}$ = frequency of genotype i in the initial population

$\hat{p}$ = gene frequency of A at equilibrium

$\hat{\mu}$ = population mean at equilibrium

$\hat{t}$ = time (in generations) to equilibrium

s = selfing-rate of the three genotypes

$z_i^{(n)}$ = zygotic frequency of genotype i in generation n after pollination with selfing-rates and rate of random outcrossing 1-s.

Equilibrium condition :

$$\Delta p = p_{n+1} - p_n = 0 \text{ and } \Delta F = F_{n+1} - F_n = 0 \quad (1)$$

where $F_n = 1 - x_2^{(n)} / 2p_nq_n$.

F = Wright's fixation-index : WRIGHT (1965), WORKMAN and JAIN (1966). In the numerical calculations we used the equilibrium-condition :

$$|\Delta p| < 10^{-4} \text{ and } |\Delta F| < 10^{-4} \quad (2)$$

This lower bound of 10^{-4} seems to be sufficient for the breeding-applications intended. The stability properties of the equilibria have not yet been investigated.

Starting with an arbitrary initial population we obtain the zygotic frequencies $z_i^{(n)}$ in generation n with selfing-rate s and rate of random outcrossing $1-s$:

$$\left. \begin{aligned} z_1^{(n)} &= (1-s) \left[x_1^{(n)} + \frac{1}{2} x_2^{(n)} \right]^2 + s \left[x_1^{(n)} + \frac{1}{4} x_2^{(n)} \right] \\ z_2^{(n)} &= 2(1-s) \left[x_1^{(n)} + \frac{1}{2} x_2^{(n)} \right] \left[x_3^{(n)} + \frac{1}{2} x_2^{(n)} \right] + \frac{1}{2} s x_2^{(n)} \\ z_3^{(n)} &= (1-s) \left[x_3^{(n)} + \frac{1}{2} x_2^{(n)} \right]^2 + s \left[x_3^{(n)} + \frac{1}{4} x_2^{(n)} \right] \end{aligned} \right\} \quad (3)$$

(Derivation and discussion of these formulas see, for example: WÖHRMANN and LANGE (1970); ALLARD, JAIN and WORKMAN (1968)).

Now selection acts on these zygotes in generation n with frequencies $z_i^{(n)}$ with the following fitness-values $w_i^{(n)}$:

$$w_1^{(n)} = 1 + u; \quad w_2^{(n)} = 1 + hu; \quad w_3^{(n)} = 1 \text{ for all } n \quad (4)$$

u = selection coefficient

h = dominance factor

The genotypic frequencies $x_i^{(n+1)}$ in generation $n+1$ are given by:

$$x_i^{(n+1)} = \frac{z_i^{(n)} w_i^{(n)}}{\bar{w}^{(n)}} \text{ with } \bar{w}^{(n)} = \sum_i z_i^{(n)} w_i^{(n)} \quad (5)$$

Applying this selection-scheme (5) the interesting parameters: gene frequency of A at equilibrium, time to equilibrium and population mean at equilibrium will be denoted by $\hat{p}$, $\hat{t}$ and $\hat{\mu}$.

Secondly, the situation of an additional complete *aa*-elimination in each generation (after performing the zygotic selection defined above in (5)) will be considered. Applying this selection-scheme the interesting parameters will be denoted by $\hat{p}^*$, $\hat{t}^*$ and $\hat{\mu}^*$.

The case $w_3^{(n)} = 0$ is of special importance from a breeding point of view, for example breeding for disease resistance. Looking at the definition of the fitness-values in (4) it seems that this situation $w_3^{(n)} = 0$ is not coherent with model (4). But $w_3^{(n)} = 0$ is included in our investigations using the second selection-scheme defined above with an additional complete *aa*-elimination in each generation.

The following different initial populations (generation $n=0$), which are of special interest for the breeding point of view, were analysed:

$$\text{I) } x_1^{(0)} = 0.25 \quad x_2^{(0)} = 0.50 \quad x_3^{(0)} = 0.25 \quad (6)$$

(F₂-generation of a cross of homozygous parents).

$$\text{II) } x_1^{(0)} = 0.33 \quad x_2^{(0)} = 0.67 \quad x_3^{(0)} = 0 \quad (7)$$

(F₂-generation of a cross of homozygous parents after *aa*-elimination).

$$\text{III)} \quad x_1^{(0)} = p_0^2 + 2p_0q_0 \frac{s}{4-2s}; \quad x_2^{(0)} = 2p_0q_0 \left(1 - \frac{s}{2-s}\right) \quad (8)$$

$$x_3^{(0)} = q_0^2 + 2p_0q_0 \frac{s}{4-2s}$$

p_0 resp. q_0 = genefrequency of A resp. a in the initial population.

III) describes an equilibrium population (without selection) with selfing rate s and initial genefrequency p_0 . (Derivation see, for example : ALLARD, JAIN and WORKMAN (1968)).

III) will be used for different p_0 -values.

In the numerical calculations all possible parameter-combinations of the following values had been employed :

$s = 0; 0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5; 0.6; 0.7; 0.8; 0.9; 1$

$u = 0; 0.5; 1; 2; 5; 10; 50$

$p_0 = 0.1; 0.5; 0.9$

$h = 0.50; 0.75; 1.00; 1.25; 1.50; 2.00$

The main problem of this study is the investigation of the dependence of $\hat{p}$, $\hat{t}$ and $\hat{u}$ resp. $\hat{p}^*$, $\hat{t}^*$ and $\hat{u}^*$ on s , u , h and the composition of the initial population.

3. — Results

A. — Results for $\hat{p}$ resp. $\hat{p}^*$

a) Nontrivial equilibria ($\hat{p} \neq 0$, $\hat{p} \neq 1$) resp. ($\hat{p}^* \neq 0$, $\hat{p}^* \neq 1$) only for $h > 1$ (i.e. only with overdominance).

b) Equal $\hat{p}$ -values resp. $\hat{p}^*$ -values for initial populations I and II. That means : An unique *aa*-elimination in F_2 is of no effect on $\hat{p}$ resp. $\hat{p}^*$.

A numerical example of $\hat{p} = \hat{p}(s)$ resp. $\hat{p}^* = \hat{p}^*(s)$ for $u = 0.50$, $h = 2$ and initial population I is given in figure 1, which demonstrates the general results — namely :

c) $\hat{p}$ resp. $\hat{p}^*$ increase with increasing s . For large s -values : fixation of A-allele ($\hat{p} = 1$ resp. $\hat{p}^* = 1$).

d) $\hat{p}^* \geq \hat{p}$ for all s .

e) $(\hat{p}^* - \hat{p})$ independent on s .
(Except : very large s)

f) $(\hat{p}^* - \hat{p})$ decreases with increasing u .

Therefore : $\hat{p}^* \cong \hat{p}$ for large u , i.e. permanent complete *aa*-elimination in each generation is of decreasing influence on the gene frequency at equilibrium with increasing u .

g) $\hat{p} = \hat{p}(u) \cong \text{const}$ and $\hat{p}^* = \hat{p}^*(u) \cong \text{const}$.

This result is especially valid for the first selection-scheme without complete *aa*-elimination in each generation.

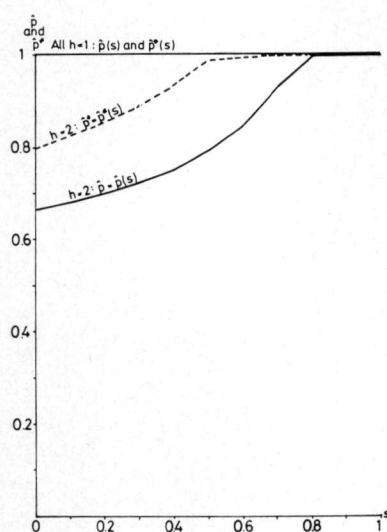


FIG. 1. — Numerical example of $\hat{p} = \hat{p}(s)$ and $\hat{p}^* = \hat{p}^*(s)$ for $u = 0.50$, $h = 2$ and initial population I

$$\begin{aligned} x_1^{(0)} &= 0.25 \\ u = 0.50 \text{ and } x_2^{(0)} &= 0.50 \\ x_3^{(0)} &= 0.25 \end{aligned}$$

- h) $\hat{p}$ resp. $\hat{p}^*$ independent on p_0 for initial population III.
 i) Equal $\hat{p}^*$ -values for initial populations I, II and III.
 Some $\hat{p}$ -differences for large u (for example : $u \geq 2$) (especially for small s).

B. — Results for $\hat{t}$ resp. $\hat{t}^*$

- a) Maxima of $\hat{t} = \hat{t}(s)$ resp. $\hat{t}^* = \hat{t}^*(s)$ with overdominance-located at increasing s for increasing u .

For $h \leq 1$: decreasing $\hat{t}$ resp. $\hat{t}^*$ with increasing s .

A numerical example of $\hat{t} = \hat{t}(s)$ resp. $\hat{t}^* = \hat{t}^*(s)$ for $u = 0.50$, three different degrees of dominance ($h = 0.5$, $h = 1$ and $h = 2$) and initial population I is given in figure 2.

- b) Nearly equal $\hat{t}$ -values resp. $\hat{t}^*$ -values for initial populations I and II.
 That means : An unique *aa*-elimination in F_2 is of no effect on $\hat{t}$ resp. $\hat{t}^*$.

- c) $\hat{t}^* \leq \hat{t}$ for all s (Except : overdominance).

- d) For each s : $\hat{t}$ resp. $\hat{t}^*$ decrease with decreasing dominance.

- e) $(\hat{t}^* - \hat{t})$ decreases with increasing u (for all h).

Therefore : $\hat{t}^* \cong \hat{t}$ for large u , i.e. permanent complete *aa*-elimination in each generation is of decreasing influence on the time to equilibrium with increasing u .

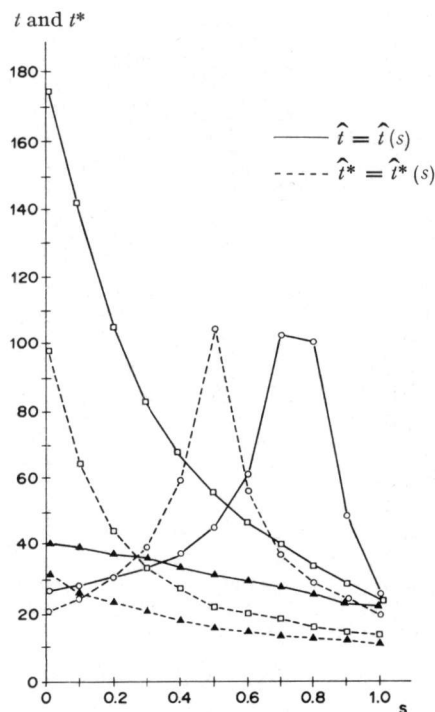


FIG. 2. — Numerical example of $\hat{t} = \hat{t}(s)$ and $\hat{t}^* = \hat{t}^*(s)$ for $u = 0.50$, three different degrees of dominance ($h = 0.5$, $h = 1$ and $h = 2$) and initial population I.

$$\begin{array}{ll}
 x^{(0)} = 0.25 & h = 0.5(\blacktriangle) \\
 u = 0.50 \text{ and } x^{(0)}_2 = 0.50 & h = 1.0(\square) \\
 x^{(0)}_3 = 0.25 & h = 2.0(o)
 \end{array}$$

f) $\hat{t}$ independent on p_0 for the initial population III.

For the second selection-scheme with complete aa -elimination in each generation one obtains a slight dependence of $\hat{t}^*$ on p_0 .

g) Nearly equal $\hat{t}^*$ -values for the initial populations I, II and III. Some $\hat{t}$ -differences for large u (for example : $u \geq 2$) (especially for small s).

But all these agreements for $\hat{t}$ resp. $\hat{t}^*$ mentioned in B) turn out to be somewhat poorer than in the analogous results for $\hat{p}$ resp. $\hat{p}^*$.

C. — Results for $\hat{\mu}$ resp. $\hat{\mu}^*$

Of special interest for applications in breeding and crop science are of course studies on the population mean $\hat{\mu}$ resp. $\hat{\mu}^*$ at equilibrium.

But in the 1 locus-2 alleles-case such investigations of the population mean are only relevant for situations without reaching a fixation of the A-allele. Because otherwise the whole population consists of AA-genotypes and a study of the population mean would be selfevident. In more complex genetic situations investigations with fixation of course are also relevant, e.g. synthetics with truncation selection.

But in the present 1 locus-2 alleles-case we consider only situations without reaching a fixation of the A-allele, that means : relevance of population — mean — studies only for overdominance.

For this population-mean-computation we assumed the same degree of dominance than in the zygotic selection (see (4)) — and the main results for $\hat{\mu}$ resp. $\hat{\mu}^*$ can be summarized as follows :

a) $\hat{\mu}$ and $\hat{\mu}^*$ are nearly independent on the composition of the initial population.

b) $\hat{\mu}$ and $\hat{\mu}^*$ increase with increasing u (for each s).

c) $\hat{\mu}$ and $\hat{\mu}^*$ decrease with increasing s (for each u).

d) $\hat{\mu}^* \leq \hat{\mu}$. But these differences are only significant for small u and intermediate s .

A numerical example of $\hat{\mu} = \hat{\mu}(s)$ resp. $\hat{\mu}^* = \hat{\mu}^*(s)$ for $u = 0.50$, $h = 2$ and initial population I is given in figure 3.

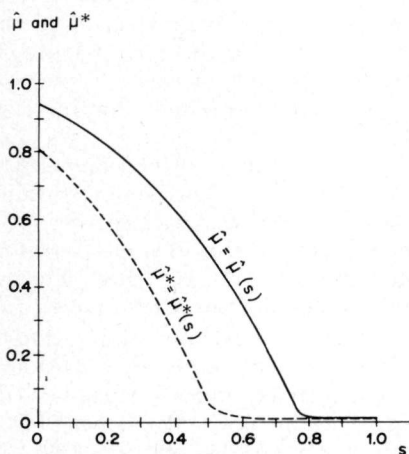


FIG. 3. — Numerical example of $\hat{\mu} = \hat{\mu}(s)$ and $\hat{\mu}^* = \hat{\mu}^*(s)$ for $u = 0.50$, $h = 2$ and initial population I

$$\begin{array}{lcl} u = 0.50 & & x_1^{(0)} = 0.25 \\ h = 2 & \text{and} & x_2^{(0)} = 0.50 \\ & & x_3^{(0)} = 0.25 \end{array}$$

The main conclusion from these theoretical results for the population mean at equilibrium can be summarized : Because of the maxima of $\hat{\mu} = \hat{\mu}(s)$ resp. $\hat{\mu}^* = \hat{\mu}^*(s)$ for $h > 1$ and large s (for all u) and the shape of $\hat{\mu} = \hat{\mu}(s)$ resp. $\hat{\mu}^* = \hat{\mu}^*(s)$ highest population mean in the shortest time can be only realized by highest u and lowest s (further details, see chapter 4 : discussion and breeding — implications).

4. — Discussion and implications for plant breeding

Because of the partial allogamy progenies from crosses between non-relatives, progenies from crosses between relatives — for example sib — crosses — and progenies from self-pollination are standing together in populations with mixed

selfing and random mating (for example : winter-rape (*Brassica napus*)) — especially in composite and synthetic varieties (Composite variety = Different separately maintained lines are open pollinated together in a mixture in each year to produce the basic seed of the variety).

Therefore, the yield of such populations with mixed selfing and random mating (consisting of homozygotes and heterozygotes) depends on several factors:

- 1) The outcrossing rate
- 2) The number of the lines
- 3) The combining abilities of the lines, *i.e.* the heterotic effects of the crosses
- 4) The inbreeding effects
- 5) The yield of the lines
- 6) The competitive effects between self-pollinated progenies and crosspollinated progenies.

Experimental studies with winter-rape — using (homozygous) inbred lines and their (heterozygous) F_1 — yields (for example for the character 'grain yield per plant') a statistically significant higher yield of the heterotic F_1 in a certain competition — situation in relation to the corresponding F_1 — pure stand yield. This optimal neighbourhood-arrangement was : F_1 -plants completely surrounded by plants of one of the parental inbred lines (for these competition-studies and results, see : HÜHN and SCHUSTER 1975).

Considerations how to use such positive competitive effects between self-pollinated progenies and crosspollinated progenies — that means between homozygotes and heterozygotes — would not lead to the development of hybrid varieties (where, additionally, the problem of male-sterility has to be solved); but this would lead to other variety-structures, where homozygotes as well as heterozygotes are present in the populations with certain frequencies.

Of course, the higher yield of a certain competition-situation (here : F_1 surrounded by one inbred line) does not imply an analogous increased yield of the total yield of a corresponding mixed crop. Because it is impossible to built up a mixed crop only consisting of this optimal competition-situation without using some other lower-yielding competition-situations (see : HÜHN and SCHUSTER, 1975). If the yields of all possible competition-situations are known, it is possible (using statistical procedures) to compute mixture-effects in relation to the total yield of the population as well as optimal proportions in the mixtures for mixed crops consisting of different components, for example homozygote and heterozygote genotypes (optimal = maximal yield) (see : HÜHN, 1972).

Using such a variety-structure, therefore, the separate production of self-pollinated progenies and crosspollinated progenies would be necessary in each year, where the seed would be mixed in certain proportions in each year for the composition of the variety.

In close connection with the composite varieties mentioned above are the variety-structure of « semi-hybrid-varieties » in the terminology of WRIGHT (1972) : Instead of using two parents it is possible to multiply each parent in isolation and produce a semi-hybrid-variety by bulk interpollination of the two parental populations. For a discussion of these semi-hybrid-varieties see for example : FOSTER (1971 a-c), WRIGHT (1972) and GALLAIS (1973). The study and application of mixed crops (mixed crops of inbred lines with their crosses as well as composite varieties, synthetic varieties and semi-hybrid-varieties thus leads to the problem of the optimal proportions of the components in the mixtures. In all these variety-structures (composite varieties, synthetic varieties, mixtures of inbred lines with

their F_1 's, semi-hybrid-varieties) heterotic effects (which are often found for the character 'grain yield') as well as positive competitive effects between selfpollinated progenies and crosspollinated progenies can be utilized practically : See, for example, the experimental results with composite varieties of SCHUSTER and MICHAEL (1976) for *Brassica napus oleifera* and ALAVI (1976) for *Sinapis alba* where, additionally, the advantageous properties of composite varieties for yielding-stability with regard to varying environmental conditions had been shown.

Studying the properties of usual open-pollinated varieties as well as synthetic varieties and composite varieties leads to a discussion of the equilibrium composition of such populations and therefore to an investigation of the existence and properties of nontrivial population genetic equilibria, then : To avoid decreasing yield as a consequence of still changing genotypic compositions it would be necessary to obtain a variety-composition which reaches the maximum yield nearly at the population genetic equilibrium. With regard to the multiplication of the parental populations such equilibria-investigations are also of interest for the study of semi-hybrid-varieties. Therefore the population genetic equilibria-studies of chapter 3 are of great interest for the breeding point of view — for example with regard to optimal variety-structure.

One of the main conclusions of the present study (given in chapter 3) shows, that highest population mean at equilibrium in the shortest time can be only realized by highest selection-coefficient u and lowest selfing-rate s . s -differences between different genotypes are often found to be genetically determined. Furthermore, in chapter 3 we got an almost complete independence of the equilibrium population on the composition of the initial population. Therefore selection for the selfing-rate s seems to be the best possibility for the breeder to obtain a certain optimal composition of the population at equilibrium.

Reçu pour publication en août 1979

Résumé

Équilibres génétiques dans les populations allogames avec sélection et autofécondation partielle, avec quelques conséquences pour l'amélioration des plantes

Chez les espèces à fécondation croisée avec un certain taux d'autofécondation, pour le développement de variétés synthétiques, de variétés composites, ou même de variétés semi-hybrides, il peut être important de savoir si la sélection par la compétition entre plantes voisines, particulièrement entre plantes homozygotes et plantes hétérozygotes, peut conduire au niveau de la population à des équilibres génétiques. Le problème est envisagé d'un point de vue théorique par le modèle le plus simple : un locus et deux allèles A et a .

La fréquence génique $\hat{p}$ de A , la moyenne $\bar{p}$ de la population à l'équilibre, le temps $\hat{t}$ pour atteindre cet équilibre, sont étudiés en fonction du taux d'autofécondation s , du coefficient de sélection u , du paramètre de dominance h ($1 + u$, $1 + hu$ et 1 sont les valeurs sélectives des génotypes AA , Aa , aa), et de la composition initiale de la population.

Les résultats les plus importants sont les suivants :

- 1° Un équilibre non-trivial ($\hat{p} \neq 0$, $\hat{p} \neq 1$) n'existe que pour $h > 1$ (superdominance).
- 2° $\hat{p}$ augmente avec les valeurs de s et il y a fixation de l'allèle A pour les valeurs élevées de s ($\hat{p} = 1$).
- 3° Tous les paramètres de l'équilibre sont presque indépendants de la composition originale de la population.
- 4° $\bar{p}$ augmente avec les valeurs de u , quel que soit s .
- 5° $\bar{p}$ diminue lorsque s augmente quel soit u .

$6^\circ \hat{t}$ passe par un maximum ($\hat{t} = \hat{t}(s)$) dans le cas de superdominance, avec de fortes valeurs de s et de u .

$7^\circ \hat{t}$ diminue lorsque la dominance diminue (pour tout s).

Pour la moyenne de la population à l'équilibre, la principale conclusion de ces résultats théoriques peut être résumée de la façon suivante : à cause du maximum de $\hat{t} = \hat{t}(s)$ pour $h > 1$ et fortes valeurs de s (pour tout u), et de la forme de $\hat{u} = \hat{u}(s)$, les moyennes les plus élevées ne peuvent être atteintes assez rapidement qu'avec de fortes valeurs de u et de faibles valeurs de s .

References

- ALLARD R. W., JAIN S. K., WORKMAN P. L., 1968. The genetics of inbreeding populations. *Adv. Genet.*, **14**, 55-131.
- ALAVI A., 1976. *Die Auswirkungen der fortgesetzten Inzucht von I_0 bis I_6 und die Heterosiseffekte bei Weisssem Senf (Sinapis alba) und Schwarzem Senf (Brassica nigra)*. Dissertation beim Fachbereich « Angewandte Biologie und Umweltsicherung » der Universität Gießen.
- FOSTER C. A., 1971 a. Interpopulational and intervarietal hybridization in *Lolium perenne* breeding: heterosis under non-competitive conditions. *J. agric. Sci., Camb.*, **76**, 107-130.
- FOSTER C. A., 1971 b. A study of the theoretical expectation of F_1 hybridity resulting from bulk interpopulational hybridization in herbage grasses. *J. agric. Sci., Camb.*, **76**, 295-300.
- FOSTER C. A., 1971 c. Interpopulational and intervarietal hybrids in *Lolium perenne*: heterosis under simulated sward conditions. *J. agric. Sci., Camb.*, **76**, 401-410.
- GALLAIS A., 1973. Some factors affecting strategy of breeding for yield in cross-fertilized forage plants. *Proc. 1rs Meeting Section « Biometrics in plant breeding » of EUCARPIA*, Hannover, 9-19.
- HÜHN M., 1972. Untersuchungen zur Konkurrenz in Mischbeständen aus n Komponenten. I. Darstellung des Untersuchungsmodells und Ableitung einiger Ergebnisse über Mischungseffekte und optimale Mischungsverhältnisse. Teil 1: *Z. Acker-Pflanzenbau*, **135** (1), 57-77. Teil 2: *Z. Acker-Pflanzenbau*, **135** (2), 85-106.
- HÜHN M., SCHUSTER W., 1975. Untersuchungen zur quantitativen Einschätzung von Konkurrenzeffekten in Winterrapsbeständen. *Z. Pflanzenzücht.*, **75**, 217-236.
- SCHUSTER W., MICHAEL J., 1976. Untersuchungen über Inzuchtdepressionen und Heterosiseffekte bei Raps (*Brassica napus oleifera*). *Z. Pflanzenzücht.*, **77**, 56-66.
- WÖHRMANN K., LANGE P., 1970. Untersuchungen zur Wechselwirkung von Selektion und Selbstungsrate auf das genetische Gleichgewicht unter besonderer Berücksichtigung tetraploider Populationen. *Theor. appl. Genet.*, **40**, 289-295.
- WORKMAN P. L., JAIN S. K., 1966. Zygotic selection under mixed random mating and self-fertilization: theory and problems of estimation. *Genetics*, **54**, 159-171.
- WRIGHT S., 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, **19**, 395-420.
- WRIGHT A. J., 1972. A theoretical appraisal of the relative merits of 50 per cent hybrid and synthetic varieties of grasses. *J. agric. Sci., Camb.*, **79**, 245-247.

Obtention d'ergot par inoculation d'un Blé mâle stérile et d'un Triticale avec cinq souches de *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul.

J. J. GUILLAUMIN (*), M. BERNARD (**), M. ROUSSET (**)
J. M. AÏACHE (***) et J. P. FOUCHER (***)

(*) Station de Pathologie végétale
Centre de Recherches de Clermont-Ferrand, I.N.R.A.
Domaine de Mon Désir, 63039 Clermont-Ferrand

(**) Station d'Amélioration des Plantes
Centre de Recherches de Clermont-Ferrand, I.N.R.A.
Domaine de Crouelle, 63039 Clermont-Ferrand

(***) Faculté de Pharmacie
28, place Henri-Dunant
63000 Clermont-Ferrand

Résumé

Une lignée de Blé tendre mâle-stérile et une lignée de Triticale ont été inoculées avec 5 souches de *Claviceps purpurea*, dont 2 isolats d'origine naturelle provenant respectivement de Blé et de Seigle, et 3 souches monoasporées issues de l'isolat provenant du Blé.

Une certaine spécialisation des isolats naturels a pu être mise en évidence, la souche « Blé » produisant plus d'ergot sur le Blé et la souche « Seigle » étant au contraire plus agressive vis-à-vis du Triticale. Par contre, la composition des ergots récoltés était indépendante de l'hôte.

Les souches d'origine monoasporée ont fourni, sur le Blé, des rendements inférieurs à ceux de la souche-mère. En revanche, les teneurs en alcaloïdes totaux des ergots obtenus à partir de ces souches étaient plus élevées que celles des ergots de la souche-mère, et leur spectre d'alcaloïdes était très différent.

Introduction

La maladie de l'ergot des céréales, provoquée par le champignon *Claviceps purpurea*, affecte essentiellement les espèces allogames : Seigle et graminées fourragères. Les céréales autogames sont généralement protégées de l'infection d'une part par la brièveté de la période d'ouverture des glumes, d'autre part par la précocité de la fécondation, qui survient la plupart du temps avant l'ouverture

des glumes : de nombreux auteurs, notamment RAPILLY (1968), SOSULSKI et BERNIER (1975), CUNFER *et al.* (1975), WATKINS et LITTLEFIELD (1976) ont en effet montré que les ovaires fécondés acquièrent une résistance totale au *Claviceps* au bout de délais variables, mais pouvant être aussi faibles que 24-48 heures chez certaines lignées d'Orge (CUNFER *et al.*).

Cependant, pour mettre au point des variétés hybrides de Blé et d'Orge, il a fallu créer des lignées mâle-stériles qui se comportent comme des plantes allogames. De nombreux auteurs mentionnent la grande sensibilité à l'ergot de ces lignées (PURANIK et MATHRE, 1971; CUNFER *et al.*, 1974; DARLINGTON et MATHRE, 1976).

Il en est de même pour certains amphiploïdes Blé $\times$ Seigle (Triticale), dont le niveau de fertilité a été insuffisamment amélioré; ces Triticales présentent fréquemment une longue durée d'ouverture des fleurs; ils se comportent donc de façon assez analogue aux génotypes mâle-stériles, et manifestent eux aussi une sensibilité notable à l'ergot (PLATFORD et BERNIER, 1970-76).

Ces faits ont entraîné un regain d'intérêt des phytopathologistes pour la maladie de l'ergot. Mais ils pourraient également intéresser la pharmacie : en effet, à partir des sclérotés du *Claviceps purpurea*, on extrait six alcaloïdes dérivés de l'acide lysergique, qui entrent dans la composition de diverses spécialités utilisées par la médecine dans de nombreux domaines. On peut, certes, fonder des espoirs sur l'obtention de ces alcaloïdes par culture du champignon *in vitro* (MANTLE et TONOLO, 1968; MANTLE, 1969). Il n'en reste pas moins que l'utilisation de nouveaux hôtes, jointe à la sélection de souches de *Claviceps* adaptées, pourrait également ouvrir des perspectives intéressantes, à condition que la teneur en alcaloïdes et le spectre alcaloïdique des nouvelles associations s'avèrent satisfaisants.

Nous présentons ici les résultats d'une étude préliminaire dans laquelle une variété de Blé mâle-stérile et une lignée de Triticale ont été inoculées avec 5 souches de *C. purpurea*; les notations ont porté sur le taux de réussite des inoculations, les rendements en ergot et la composition en alcaloïdes des ergots récoltés.

Matériel et méthodes

I. — Hôtes

Les espèces hôtes choisies pour l'étude sont un blé demi-nain androstérile : X *Triticum aestivum* L. ssp *vulgare* cv. « Courtot » et un Triticale : *Triticosecale* Wittmack.

A. Le Blé

Les gènes de demi-nanisme du cultivar « Courtot » proviennent de la lignée japonaise « Norin 10 ». L'androstérilité, de type cytoplasmique, résulte de l'interaction des gènes nucléaires du blé tendre et du cytoplasme de *Triticum timopheevi* Zhukovskii.

L'androstérilité se caractérise par une dégénérescence du gamétophyte mâle après la formation de l'exine et de l'intine, les anthères ne sont pas déhiscents ou ne libèrent pas de pollen viable; en l'absence d'allopollen, la fécondation n'a pas lieu bien que le gamétophyte femelle soit fonctionnel.

B. *Le Triticale*

La lignée utilisée (532-4) est issue du croisement : T 204 ($2n = 56$) $\times$ T 847 ($2n = 42$, JENKINS), réalisé par M^{me} CAUDERON en 1969. Cette lignée a été sélectionnée à la Station d'Amélioration des Plantes de Clermont-Ferrand. Son nombre de chromosomes est $2n = 42$.

II. — *Champignon*

A. *Choix des isolats*

Nous avons utilisé deux isolats d'origine naturelle et trois souches obtenues au laboratoire :

- la souche CPC a été isolée de Seigle (à partir d'un sclérote);
- la souche CPB a été isolée de Blé mâle-stérile (également à partir d'un sclérote);

- les trois souches B 77-1, B 77-2 et B 77-3 ont été obtenues par cultures monoascosporées à partir de CPB : des inoculations, effectuées en 1976 sur Blé mâle-stérile avec la souche CPB, ont donné naissance à des sclérotés. Certains de ces sclérotés (choisis sur des épillets inoculés, de façon à limiter au maximum le risque d'une contamination par une souche naturelle) ont été récoltés, mis en vernalisation pendant 2 mois $\frac{1}{2}$ à 5 °C et à l'humidité, puis en germination à 20 °C. Il est apparu des têtes à ascothécies; les ascospores éjectées par l'une de ces têtes ont été récupérées dans une solution de pénicilline (100 ppM) + streptomycine (100 ppM). Par dilution, on a pu obtenir 25 souches issues chacune d'une ascospore unique (la forme en fouet des ascospores permettant de repérer aisément les gouttes contenant plusieurs spores et de les éliminer) (1).

Trois de ces 25 souches ont été retenues pour notre essai; ces trois souches ont été choisies uniquement en raison de leurs morphologies différentes *in vitro* (seul critère de différenciation alors disponible).

B. *Culture*

Les souches sont cultivées sur un milieu P.D.A. gélosé réparti dans des bouteilles de Roux d'un litre, à raison de 250 ml de milieu par bouteille.

Après 1 mois $\frac{1}{2}$ à 2 mois de culture, on récupère les conidies (stade *Sphacelia*) en mouillant la surface de la gélose avec 100 ml d'eau stérile. La quantité de spores fournie par récipient varie entre 1 et 100 millions de conidies, selon les souches.

III. — *Inoculation*

L'inoculation est effectuée par piqûre à la seringue à l'aide de suspensions conidiennes ajustées à 100 000 spores par ml, dans de l'eau contenant 2 p. 100 de saccharose.

Pour chaque épi inoculé, quatre épillets ont été piqués, les épillets inoculés se répartissant régulièrement sur toute la hauteur de l'épi et sur ses deux rangs. Les piqûres ont été effectuées à travers les glumes; chaque épi inoculé a reçu en moyenne 0,2 ml de suspension au total, soit 20 000 conidies.

Les 5 souches ont été appliquées sur 5 parcelles de 40 m² chacune entre lesquelles était respectée une distance minimale de 50 m. Chaque parcelle était

(1) Travail effectué par M^{me} S. BERTHELAY.

semée pour moitié en Blé et pour moitié en Triticale. Par ailleurs, dans le but d'apprécier l'influence des insectes (et plus particulièrement des pucerons, abondants sur les céréales), sur l'importance des contaminations secondaires, nous avons effectué des traitements à l'aide d'un insecticide systémique (le vamidothion) sur la moitié de chacune des sous-parcelles.

L'exiguité des surfaces disponibles et la grande distance à ménager entre les parcelles ne nous ont pas permis de procéder à des répétitions.

IV. — Récolte et dépouillement

Les épis inoculés (repérés individuellement), et les épis non-inoculés voisins, dont certains portaient des ergots provenant de contaminations secondaires, ont été battus séparément. La récolte a été effectuée manuellement. Pour chacune des $5 \times 4 = 20$ sous-parcelles, on a évalué le rendement total en ergot ainsi que ses trois composantes : taux de réussite de l'inoculation (*), nombre d'ergots par épi ergoté, poids de 100 ergots.

V. — Évaluation de la teneur en alcaloïdes et leur identification

Les ergots issus des inoculations et des contaminations secondaires n'ont pas été distingués dans les analyses. Il n'a pas été fait non plus de différence entre les sous-parcelles traitées à l'insecticide et non traitées; seuls, les critères « souche » et « hôte » ont été pris en considération.

Les alcaloïdes totaux sont extraits des ergots broyés finement en présence d'acétate d'éthyle en milieu tartrique. Après concentration et reprise par de l'éther de pétrole, l'extractum est évaporé à sec. On évalue alors la teneur en alcaloïdes totaux par dosage en présence de diméthyl-amino benzaldéhyde et lecture au spectrophotomètre à 550 nm.

Les principaux alcaloïdes sont identifiés par chromatographie en couche mince (support : cellulose; solvants : hexane, acétate d'éthyle et ammoniacque : 140 - 70 - 0,5).

Quant à l'analyse quantitative, elle n'a pu être effectuée que sur les lots pour lesquels la récolte totale était supérieure à 30 g d'ergot : soit 6 lots sur 10 (tabl. 3). La méthode utilisée est la chromatographie liquide haute performance sur une phase stationnaire inverse, avec, comme solvant, de l'acétonitrile aqueux (quantité injectée 10 µg, lecture à 254 nm).

Résultats

I. — Épis inoculés (tabl. 1)

En ce qui concerne les épis inoculés, l'observation des rendements en ergots sur 100 épis et des taux de réussite de l'inoculation ne fait pas apparaître, quel que soit l'hôte considéré, de différences entre sous-parcelles traitées et non traitées

$$* \left(= \frac{\text{nombre d'épis portant au moins 1 ergot}}{\text{nombre d'épis inoculés}} \right)$$

TABLEAU I

Résultats des inoculations
(épis inoculés à la seringue)

Isolats	Hôtes	Composantes du rendement			Rendement = Poids d'ergot pour 100 épis inoculés (g)
		Taux de réussite de l'inoculation (p. 100)	Nombre moyen d'ergots sur les épis où l'inoculation a réussi	Poids de 100 ergots (g)	
CPC	blé	21,4	1,06	5,1	1,15
	triticale	63,0	1,68	5,5	5,89
CPB	blé	85,0	2,34	6,5	13,02
	triticale	57,4	1,73	4,6	4,63
B 77-1	blé	47,6	1,75	6,1	5,08
	triticale	16,9	1,43	4,7	1,15
B 77-2	blé	3,4	1,08	4,1	0,15
	triticale	7,5	1,26	3,9	0,37
B 77-3	blé	41,0	1,31	7,0	3,77
	triticale	59,1	1,41	4,6	3,83

à l'insecticide. Quant aux comportements des souches, on observe les résultats suivants :

A. Sur Blé

La souche CPB est la plus efficace (taux de réussite de l'infection = 85 p. 100; poids d'ergot pour 100 épis = 13 g). Parmi les 3 souches monoasporées issues de CPB, l'une (B 77-2) ne donne naissance qu'à une très faible quantité de sclérotés. Les deux autres se montrent, par leurs performances, assez semblables entre elles, mais nettement inférieures à l'isolat d'origine CPB.

L'isolat CPC est peu efficace vis-à-vis du blé.

B. Sur Triticale

CPC est l'isolat le plus efficace (taux de réussite : 63 p. 100, poids d'ergot pour 100 épis : 5,9 g). CPB en est assez proche (57 p. 100 et 5,9 g). Parmi les souches issues de CPB, B 77-3 est très supérieure à B 77-1, B 77-2 manifeste une efficacité quasi nulle, comme sur le Blé.

On note donc que CPB est plus efficace sur le Blé, son hôte d'origine, CPC l'étant au contraire davantage sur le Triticale. B 77-1 se comporte comme CPB; par contre avec B 77-3, le rendement obtenu sur les deux hôtes est très voisin.

II. — Épis inoculés: contaminations secondaires (tabl. 2)

Les résultats sont, dans ce cas, ramenés à l'unité de surface et non au nombre d'épis.

Les rendements en ergot apparaissent moins élevés sur les sous-parcelles traitées à l'insecticide. L'application du test non paramétrique dit « test des signes » (DAGNELIE, 1975) aux 2 dernières colonnes du tableau 2 montre que ces différences sont hautement significatives (sur 10 couples tirés d'une population homogène, la probabilité d'obtenir des différences allant 10 fois dans un sens contre 0 fois en sens inverse est, selon la formule du binôme, d'environ 1 p. 1 000).

TABLEAU 2

Résultats des contaminations secondaires
(Production d'ergot sur les épis non inoculés)

Souches	Hôtes	Nombre d'ergots au m ²		Poids d'ergot au m ² (g)	
		Sous-parcelles traitées au vamidothion	Sous-parcelles non traitées	Sous-parcelles traitées au vamidothion	Sous-parcelles non traitées
CPC	blé	4,0	21,4	0,24	1,12
	triticale	33,0	43,8	1,25	1,57
CPB	blé	107,6	236,6	6,47	9,54
	triticale	44,2	45,0	1,42	1,49
B 77-1	blé	32,4	69,4	1,88	3,34
	triticale	7,2	12,4	0,30	0,61
B 77-2	blé	0,2	1,8	0,01	0,10
	triticale	2,4	3,4	0,11	0,16
B 77-3	blé	27,4	53,2	1,73	3,02
	triticale	39,2	76,0	1,19	2,16
Moyenne des 5 souches	blé	34,3	76,4	2,06	3,42
	triticale	25,2	36,2	0,85	1,20

Par ailleurs, la comparaison des tableaux 1 et 2 fait apparaître un parallélisme étroit entre les résultats des inoculations et ceux des contaminations secondaires : on peut calculer le coefficient de corrélation entre les rendements pondéraux au m² des épis non inoculés (tabl. 2) et les rendements au m² des épis inoculés obtenus de façon théorique, en multipliant le rendement de 100 épis par 3 pour le Triticale, par 6 pour le Blé (pour tenir compte des peuplements épis au m²). Le coefficient r résultant de ce calcul est de 0,86 (valeur différant de 0 de façon hautement significative, $P = 0,765$ à 1 p. 100 avec 8 d.d.l.). L'inoculation (avec blessure) et l'infection naturelle (sans blessure) fournissent donc le même classement des souches.

Cette corrélation étroite entre les résultats des inoculations et ceux des contaminations secondaires montre en outre, de façon indirecte, que les contaminations d'une parcelle à l'autre ont été peu importantes : en particulier, la parcelle inoculée avec la souche faiblement efficace B 77-2 ne fait apparaître qu'un très petit nombre de contaminations secondaires, le transport des conidies à partir des 4 autres parcelles a donc été négligeable.

III. — Étude des alcaloïdes (tabl. 3)

Pour la souche CPB, déjà testée en 1976, nous avons également fait figurer sur le tableau 3, à titre de comparaison, les résultats de 1976.

La souche CPB montre une teneur en alcaloïdes totaux qu'on peut considérer comme moyenne si on la compare aux chiffres relevés dans la littérature. L'ergosine domine très nettement dans le spectre de cette souche. Les résultats obtenus sur les deux hôtes sont identiques.

En 1976, la même souche avait fait apparaître des teneurs en alcaloïdes totaux plus élevées, mais avec le même spectre à ergosine (dominante) et ergométrine.

B 77-1 et B 77-3 montrent des teneurs en alcaloïdes totaux 2 fois plus élevées que la souche parentale CPB. Le spectre d'alcaloïdes des 2 souches monoascosporees est très semblable (mais assez différent de celui de CPB) : c'est l'ergocornine qui est l'alcaloïde dominant. Pour B 77-3, les spectres obtenus sur les deux hôtes apparaissent (comme pour CPB) assez semblables, mis à part une différence portant sur la teneur en ergokryptine.

La teneur en alcaloïdes totaux de la souche CPC est intermédiaire entre celle de CPB et celle des souches d'origine monoascosporee. C'est l'ergocristine qui domine dans le spectre de cette souche.

Conclusions

I. — Spécialisation des isolats naturels

L'existence de « formes spéciales » à l'intérieur de l'espèce *Claviceps purpurea* est un problème controversé. En 1975, PEACH et LOVELESS, s'appuyant sur le résultat d'inoculations croisées faisant intervenir des méthodes « naturelles » (c'est-à-dire sans blessure) ont conclu en faveur de l'existence de plusieurs formes spéciales dont l'une serait inféodée à la tribu des *Triticinées*. Les souches que nous

TABLEAU 3

Résultats de l'analyse quantitative (% du poids sec)

Souches	Hôtes	Alcaloïdes totaux	Ergocristine + isoergocristine	Ergocornine + iso Co	Ergokryptine + iso Kr	Ergosine + iso Ei	Ergotamine + iso EA	Ergométrine + iso EM
CPC	triticale	0,39	0,21	0,02	0,01	0,02	0,08	0,05
CPB <i>Résultats 1977</i>	blé	0,24	0,01	0,01	0,01	0,16	—	0,05
	triticale	0,25	0,01	0,01	0,01	0,19	—	0,03
CPB rappel <i>résultats 1976</i>	blé	0,35	0,03	—	traces	0,20		0,12
	triticale	0,40	0,04	—	traces	0,18		0,16
B 77-1	blé	0,54	—	0,21	0,07	0,10	—	0,16
B 77-3	blé	0,46	—	0,21	0,05	0,11	—	0,09
	triticale	0,53	—	0,19	0,11	0,11	—	0,12

avons utilisées appartiendraient donc à la même forme spéciale. Cependant, la souche CPB, isolée du Seigle, montre une efficacité supérieure sur Triticale (hybride Blé $\times$ Seigle) que sur Blé. C'est l'inverse pour la souche CPB isolée de Blé. Il semble donc que, même à l'intérieur d'une même forme spéciale, il puisse exister une certaine spécialisation de nature quantitative entre les isolats.

II. — *Influence respective du génotype du parasite et de celui de l'hôte sur la composition des ergots*

Si la nature de l'hôte exerce une forte influence sur les rendements en ergot, il n'en va pas de même pour la teneur en alcaloïdes et le spectre d'alcaloïdes : au vu des 3 résultats en notre possession (portant sur CPB et B 77-3), le génotype du champignon semble, de ce point de vue, prépondérant; il est donc possible de produire à partir d'autres céréales-hôtes les alcaloïdes qui jusqu'à présent, étaient obtenus par inoculation du Seigle.

III. — *Rôle des insectes dans les contaminations secondaires*

L'apport d'un insecticide systémique actif contre les insectes suceurs de sève a entraîné une nette diminution du nombre des contaminations secondaires. Ce même apport ayant été sans effet sur les inoculations, il semble donc que le vamidothion a bien agi en limitant le nombre des insectes suceurs, et non en réduisant l'efficacité de l'infection (par exemple par effet fongicide ou éliciteur). Les insectes suceurs de sève semblent donc assurer une part importante des contaminations secondaires. Les tentatives d'amélioration de la production d'ergot par voie agricole devront tenir compte de ce facteur.

IV. — *Utilisation des ascospores pour la sélection de souches de Claviceps*

Les souches monoasporées testées se sont montrées inférieures à la souche-mère du point de vue du rendement en ergot (du moins sur le Blé). Mais ce phénomène n'est pas forcément général : rappelons que les 3 souches avaient été choisies, parmi 25 souches issues d'une unique tête à ascothécies, seulement parce qu'elles présentaient des morphologies très différentes *in vitro*.

Par contre, la teneur en alcaloïdes totaux de B 77-1 et B 77-3 est double de celle de CPB; quant au spectre de ces deux souches, il apparaît plus intéressant que celui de CPB : alors que le spectre de cet isolat est dominé par l'ergosine, composé non utilisé par l'industrie pharmaceutique, le constituant dominant de B 77-1 et B 77-3 est l'ergocornine, presque absente du spectre de CPB. L'ergokryptine est également présente en proportions notables.

Il semble donc que l'isolement de souches monoasporées pourrait permettre, par l'exploitation de la variabilité potentielle de *Claviceps purpurea*, d'effectuer une sélection efficace chez cette espèce.

Reçu pour publication en août 1979.

Summary

Ergot production by inoculation of male-sterile wheat and triticale with five strains of Claviceps purpurea (Fr.) Tul.

Ergot disease of cereals caused by the fungus *Claviceps purpurea* mainly concerns the cross-pollinated species. The genetically male-sterile genotypes in the self pollinated species and the male-fertile new amphiploid species, Triticale, recently created by selection, have been found to be susceptible to *Claviceps purpurea*. These facts have brought about renewed interest of phytopathologists in ergot disease. Moreover the pharmaceutical industry which extracts six alkaloids derived from lysergic acid from the sclerotia has expressed interest in the production of ergot. From this point of view the use of different hosts combined with the selection of *Claviceps* strains might open up interesting perspectives.

Here we are presenting the results of a preliminary study in which a cytoplasmic male-sterile genotype (Cultivar « Courtot ») of bread wheat and a line of Triticale (INRA selection) have been inoculated with five strains of *C. purpurea*; two strains from a natural origin (CPC isolated from rye, CPB isolated from male-sterile wheat) three strains obtained from the mono-ascospore culture of CPB in the laboratory (B 77-1, B 77-2 and B 77-3).

The inoculation is carried out by injecting, through the glume, conidia suspensions in water containing 2 p. 100 sucrose. The 5 strains are applied to 5 plots at least 50 metres apart. One half of each plot sown with wheat or Triticale is treated with insecticide to determine the influence of insects (aphids) on the incidence of secondary contaminations.

The crude alkaloids extracted from the ground ergot are separated. The main alkaloids are identified by chromatography and when there is a sufficient quantity they are separated by U.V. densitometry and/or liquid chromatography.

The results obtained show a specialization of the natural strains. The CPC strain isolated from rye is far more aggressive on Triticale (hybrid wheat $\times$ rye) than on wheat; the opposite is true for the CPB strain isolated from wheat. The hosts' nature (genotype?) strongly influences the ergot yield — this is not true with the alkaloid content and spectrum. For these the genotype of the fungus seems preponderant. Therefore it is possible to draw from other host cereals alkaloids which so far have been obtained by inoculation of rye.

The single-ascospore strains tested have proved to be inferior to the mother strain from the point of view of the ergot yield (at least on wheat). However, this phenomenon is not necessarily general in fact the 3 strains had been chosen from among 25 strains issuing from a single stroma only because they showed very different morphologies in pure culture.

On the other hand the crude alkaloid content of B 77-1 and B 77-3 is double that of CPB.

Taking into account the spectrum of these two strains it appears more interesting than that of CPB. Therefore in spite of the limited character of our tests it seems that meiosis may constitute quite a powerful source of variability within *Claviceps purpurea* which can be exploited by using strains issuing from single-ascospore isolations.

Références bibliographiques

- CUNFER B., MATHRE D. E., HOCKETT E. A., 1974. Diversity of reaction to ergot among male-sterile barleys. *Plant Dis. Repr.*, **58** (8), 679-682.
- CUNFER B., MATHRE D. E., HOCKETT E. A., 1975. Factors influencing the susceptibility of male-sterile barley to ergot. *Crop Sci.*, **15** (2), 194-196.
- DAGNELIE P., 1975. *Théorie et Méthodes statistiques* (II). Presses Agronomiques de Gembloux (p. 385).
- DARLINGTON L. C., MATHRE D. E., 1976. Resistance of male sterile wheat to ergot as related to pollination and host genotype. *Crop Sci.*, **16** (5), 728-730.
- HATINGUAIS Ph. (Centre de Recherches Pierre Fabre), 1979. Compte rendu des travaux de la Société de Pharmacie de Montpellier (sous presse).
- PEACH Janet, LOVELESS A. R., 1975. A comparison of two methods of inoculating *Triticum aestivum* with spore suspensions of *Claviceps purpurea*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **64** (2), 328-331.

- PLATFORD R. G. and BERNIER C. C., 1970. Resistance to *Claviceps purpurea* in spring and durum wheat. *Nature* **226**, 770.
- PLATFORD R. G., BERNIER C. C., 1976. Reaction of cultivated cereals to *Claviceps purpurea*. *Can. J. Plant. Sci.*, **56** (1), 51-58.
- PURANIK S. B., MATHRE D. E., 1971. Biology and control of ergot on male-sterile wheat and barley. *Phytopathology*, **61** (9), 1075-1080.
- RAPILLY F., 1968. Études sur l'ergot du blé : *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. *Ann. Epiphyties*, **19** (2), 305-329.
- SOSULSKI F., BERNIER C. C., 1975. Ergot tolerance in spring rye. *Can. Plant Dis. Survey*, **55** (14), 155-157.
- WATKINS J. E. and LITTLEFIELD L. J., 1976. Relationship of anthesis in Waldron wheat to infection by *Claviceps purpurea*. *Trans. Br. Myc. Soc.*, **66** (2), 362-363.
-



Développement et expression de l'association endomycorhizienne chez le Blé I. — Mise en évidence d'un effet variétal

Y. BERTHEAU (1), V. GIANINAZZI-PEARSON et S. GIANINAZZI (2)

Station d'Amélioration des Plantes
Centre de Recherches de Dijon, I.N.R.A.,
B.V. 1540, 21034 Dijon Cedex

Résumé

L'infection de différents cultivars de blé (*Triticum aestivum* et *T. durum*) par le champignon endomycorhizogène *Glomus mosseae* augmente, diminue ou ne modifie pas, selon les variétés, les rendements en grain et paille. L'effet mycorhizien porte, en général, sur le rendement en grain (poids et nombre) et peut être modifié par la présence des gènes de nanisme de « Norin 10 ». Les taux d'infection mycorhizienne varient aussi et l'absence de corrélation entre ceux-ci et les rendements, relatifs aux témoins, des plantes mycorhizées met en évidence un effet variétal. Cet effet se maintient dans des conditions différentes de culture.

Ces résultats démontrent l'importance du génotype de la plante-hôte dans le développement et l'expression de l'association mycorhizienne. La discussion porte sur l'éventualité d'un contrôle génétique, sa nature et son mode d'action possibles; on y souligne que la valorisation du potentiel biologique des sols nécessite la prise en considération de ces microorganismes dans les programmes de sélection, tant pour améliorer les rendements que pour éviter d'éventuelles diminutions de ceux-ci.

I. — Introduction

Les symbioses endomycorhiziennes à vésicules et arbuscules (VA) sont très répandues dans le monde végétal. Leur étude a fortement progressé ces dernières années en raison de leur importance dans la nutrition minérale des plantes (MOSSE, 1973 a; TINKER, 1978). Les augmentations de croissance des plantes, suite à une infection mycorhizienne VA résultent, en particulier, d'une amélioration de leur nutrition phosphatée (MOSSE, 1973 a; GIANINAZZI-PEARSON, 1976) et

(1) Adresse actuelle : Institut National Agronomique, Paris-Grignon, Chaïre de Botanique et Pathologie végétale, 16, rue Claude Bernard, 75231 Paris-Cedex 05.

(2) A qui les demandes de tirés-à-part doivent être adressées.

l'absorption, le transport et le transfert par l'endophyte du phosphore (P) du sol à la plante-hôte seraient dus à des mécanismes actifs (PEARSON et TINKER, 1975; COX et TINKER, 1976).

L'importance des génomes du microorganisme et de la plante-hôte dans le développement et l'expression de certaines infections tant parasitaires que symbiotiques n'est plus à démontrer (ELLINGBOE, 1976; DEVINE et WEBER, 1977). Il est maintenant établi que les espèces d'endophytes VA diffèrent dans leur capacité à améliorer la nutrition phosphatée d'une plante-hôte (MOSSE, 1972, 1978) et que les différentes espèces végétales répondent différemment à l'infection par un même endophyte (GERDEMANN, 1965; MENGE, JOHNSON et PLATT, 1978; MOSSE, 1978). Pourtant, on ignore encore si la variabilité génétique intraspécifique joue un rôle dans le développement et l'expression des associations endomycorhiziennes.

Cette étude a été abordée à l'aide de différents cultivars de Blé choisis pour leur importance agronomique et/ou leur diversité d'origine (géographique et génétique). Certains auteurs ayant signalé une plus grande sensibilité des variétés demi-naines, dérivées de « Norin 10 », à l'application d'engrais phosphatés (JESSOP, 1974; PALMER et JESSOP, 1977; SHARMA *et al.*, 1977), nous avons aussi étudié l'effet sur l'association mycorhizienne de l'introgression de gènes de nanisme *Rht* dans le génome d'une variété.

II. — Matériel et méthodes

1. — Reconstitution en conditions contrôlées de l'association mycorhizienne

La terre utilisée est celle du Domaine d'Époisses (I.N.R.A., Dijon) séchée, calibrée sur tamis de 5 mm, stérilisée au rayons γ (0,8 Mrads) et aux caractéristiques suivantes : sable 9 p. 100, limon 60 p. 100, argile 31 p. 100, P disponible (Olsen) 56 $\mu\text{g/g}$, NO_3^- 7,7 $\mu\text{g/g}$, pH 7,1. Les grains de blé sont stérilisés dans une solution d'hypochlorite de calcium à 7 p. 100 (5 mn), rincés à l'eau stérile et mis à vernaliser (4 semaines à 4 °C pour les blés de type hiver) ou à germer (25 °C pour les blés de type printemps) à l'obscurité en boîtes de Petri stériles.

Des plantules identiques (stade 3 racines, coléoptile de 1 cm) sont repiquées et inoculées ou non (plantes témoin) au niveau des racines séminales par une quantité constante d'inoculum consistant en fragments de racines d'oignons mycorhizés par *Glomus mosseae* (Nicol. et Gerd.).

Les plantes témoin reçoivent 1 ml d'un filtrat de l'eau ayant servi au dernier lavage de l'inoculum.

2. — Culture des plantes

A raison d'une plante par pot, arrosée quotidiennement à l'eau distillée, les cultures ont lieu soit en chambres climatisées (16 h de photopériode, 20 °C, 80 000 ergs/cm²/s, 70 p. 100 d'humidité relative) soit en serres (d'avril à septembre 1978). Chaque plante en pot avec, respectivement, 150 g (chambre climatisées) et 400 g (serres) de terre recevait, une fois par semaine 7 ml d'une solution nutri-

tive sans phosphore (1). Les expériences portaient par variété sur huit plantes en chambres climatisées et sur seize plantes en serres.

3. — Détermination des rendements et taux d'infection

a) Rendement

Le poids de matière sèche des parties aériennes (paille et grain) et des racines est déterminé à maturité, après la récolte des plantes et comptage des grains.

Les résultats, analysés par les tests t ou t' (SNEDECOR et COCHRAN, 1971) sont présentés sous forme de variations, relatives aux plantes témoin, des plantes infectées (dépendance mycorhizienne relative : GERDEMANN, 1975; MENGE, JOHNSON et PLATT, 1978).

b) Taux d'infection

Un échantillon de 0,5 cm est prélevé, sur les racines lavées, à 2 cm du plateau de tallage et l'infection mycorhizienne est révélée par coloration au bleu de trypan selon la méthode de PHILLIPS et HAYMAN (1971).

Les observations sont faites sur 30 fragments de racines pris au hasard et le taux d'infection est estimé par la fréquence :

$$\left(\frac{\text{nombre de fragments infectés}}{\text{nombre total de fragments observés}} \times 100 \right) \text{ et l'intensité : } \left(\frac{\text{longueur infectée des fragments}}{\text{longueur totale observée des fragments}} \times 100 \right).$$

III. — Résultats et discussion

1. — Cultures en chambres climatisées

a) Rendement

Dix huit variétés de Blé tendre (*Triticum aestivum*) et deux de Blé dur (*T. durum*) ont été éprouvées quant à leur réponse à l'infection par *G. mosseae*. Les rendements obtenus, par plante, en chambres climatisées varient, selon les variétés, de 0,854 à 3,916 g pour le poids de paille, de 0,415 à 1,707 g pour le poids de grain et de 12 à 27 pour le nombre de grains.

(1) Composition en gramme/litre des solutions nutritives employées en chambres climatisées (a) et serres (b)

	(a)	(b)		(a)	(b)
NH ₄ NO ₃	0,30	0,03	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0,001	0,0005
KNO ₃	1,22	0,122	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,00025	0,000125
MgSO ₄ · 6H ₂ O	0,22	0,022	KOH	0,008	0,004
H ₃ BO ₃	0,0015	0,00075	EDTA (disodique)	0,0132	0,0066
MnSO ₄ · 4H ₂ O	0,002	0,001	FeSO ₄	0,01	0,005
MoNH ₄	0,00005	0,000025			

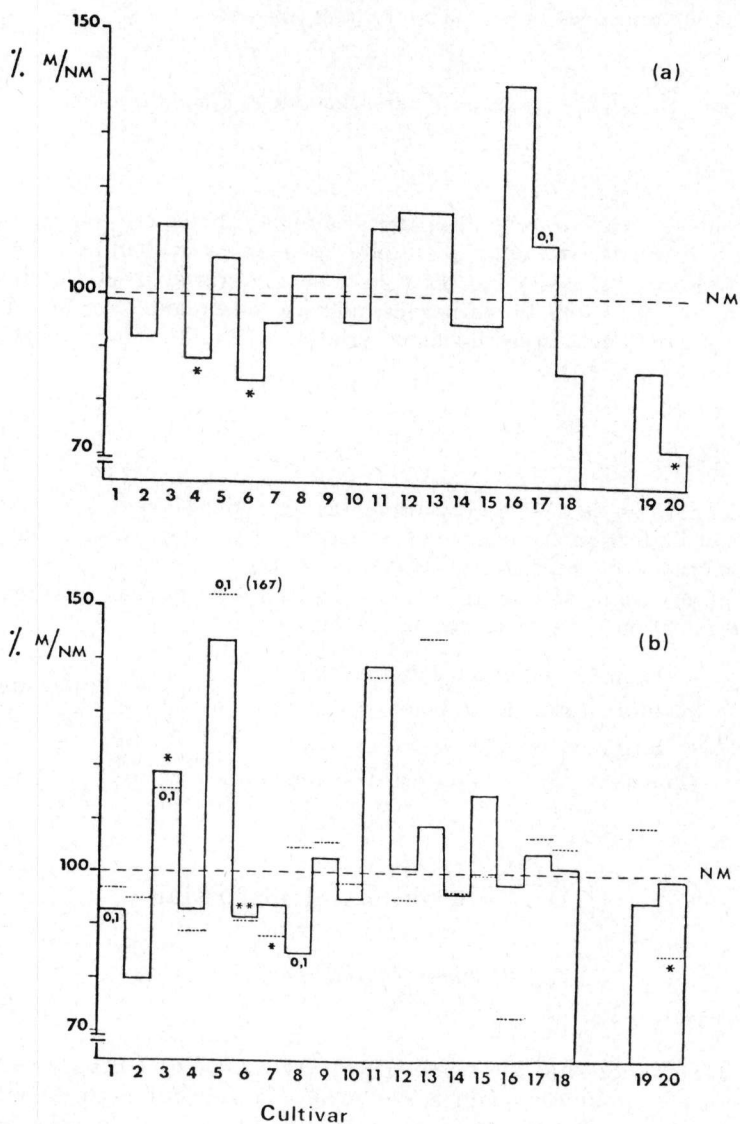


FIG. 1. — Effet de l'association mycorhizienne sur le rendement en paille (a) et en grains (b) (--- nombre, — poids) de différentes variétés de Blé cultivées en chambres climatisées. M, avec mycorhizes; NM, sans mycorhizes. 0,1, $P < 0,1$; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$.

Blé tendre :

« Alys » (1)
« Alys » mutant (2)
« Azteca » (3)
« Cesar » (4)
« Champlain » (5)
« Chrismar » (6)

« Clairon » (7)
« Courtot » (8)
« Ducat » (9)
« Kolibri » (10)
« Krasnodar » (11)
« Magdalena » (12)

« Maris Huntsmann » (13)
« Pascal » (14)
« Probstdorfer » (15)
« Roazon » (16)
« Sirius » (17)
« Sonora 64 » (18)

Blé dur :

« Durtal » (19)
« Wells » (20)

Les figures 1a et b présentent les variations de rendement des plantes mycorhizées par rapport aux plantes témoin (p. 100 M/NM). Trois types de réponse à l'infection mycorhizienne peuvent être dégagés :

— augmentation des rendements en paille (« Sirius »), en poids (« Azteca ») et en nombre (« Azteca », « Champlain ») de grains

— diminution des rendements en paille (« César », « Chrismar », « Wells »), en poids (« Aty », « Chrismar », « Courtot ») et en nombre (« Clairon », « Wells ») de grains

— pas de variations significatives par rapport aux plantes témoin (« Ducat », « Kolibri », « Pascal »...).

D'une manière générale, les variations de poids de grain, même non significatives, s'accompagnent de variations de même sens de leur nombre.

b) Taux d'infection

L'intensité et la fréquence d'infection varient beaucoup d'un cultivar à l'autre (fig. 2). L'intensité s'étage de 15,1 p. 100 (« Kolibri ») à 52,9 p. 100 (« Wells ») et la fréquence de 48 p. 100 (« Magdalena ») à 92,3 p. 100 (« Sonora 64 »). Ces deux représentations de l'infection présentent une corrélation hautement significative ($r = 0,846$, $P < 0,01$).

Aucune corrélation significative n'a pu être mise en évidence entre les variations du taux d'infection (fréquence et intensité) et celles des critères de rendement (nombre ou poids des grains, poids de paille, poids des grains/poids total des parties aériennes, poids des grains/poids de paille, poids de mille grains).

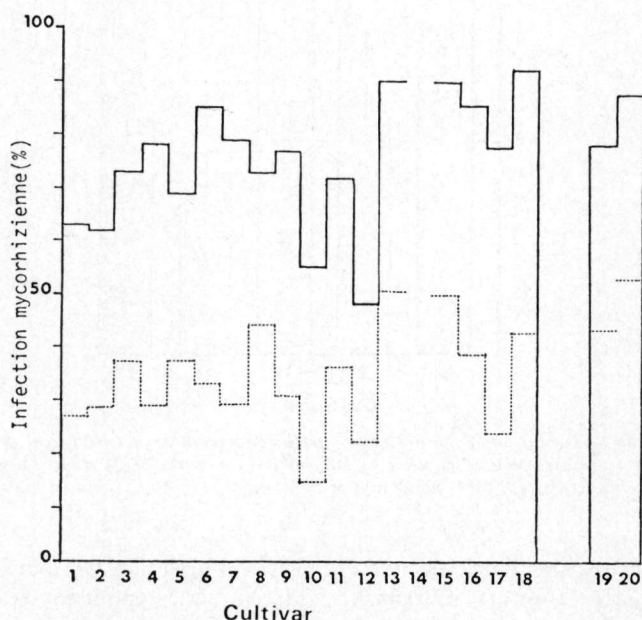


FIG. 2. — Variation des taux d'infection mycorhizienne de différentes variétés de Blé cultivées en chambres climatisées (— fréquence, - - - intensité), 1 à 20 voir figure 1.

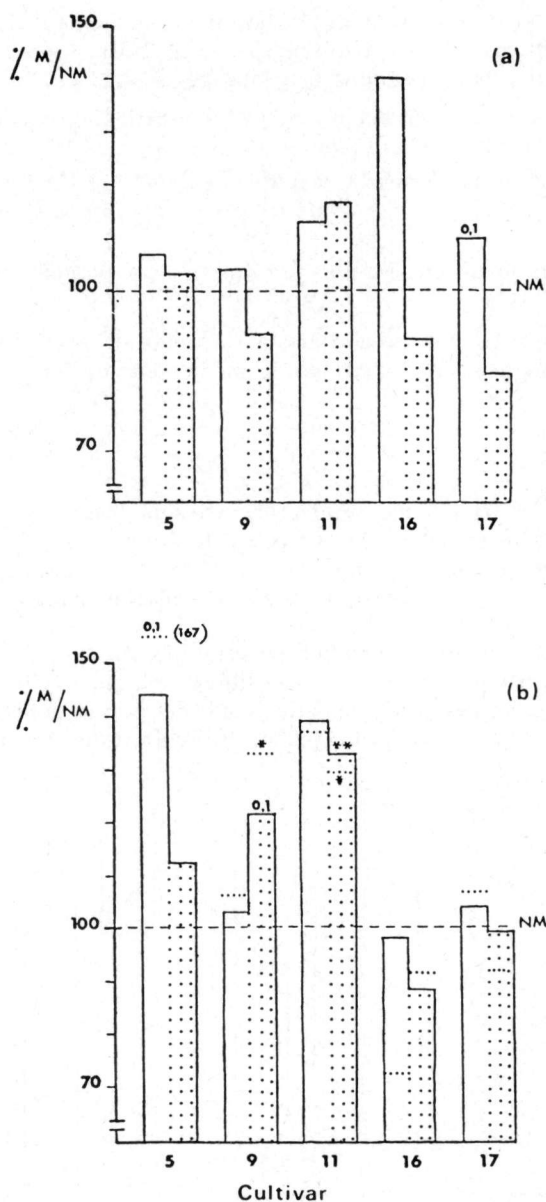


FIG. 3. — Effet de l'association mycorhizienne sur le rendement en paille (a) et grains (b) (--- nombre, — poids) de cinq variétés de Blé cultivées en serres (▨) et en chambres climatisées (□). M, avec mycorhizes; NM, sans mycorhizes. 5, 9, 11, 16, 17 : voir figure 1.

C'est ainsi que des cultivars aux intensités d'infection comparables tels que « Azteca » (37,4 p. 100) et « Chrismar » (33,2 p. 100) répondent respectivement par une augmentation et une diminution des rendements en grain, alors que les différences de mycorhization de « Ducat » et « Kolibri » (intensités d'infection de,

respectivement, 31,2 et 15,1 p. 100) n'entraînent pas de variations significatives par rapport aux plantes témoin (fig. 1a et b). Ces résultats suggèrent l'existence d'un effet variétal sur l'expression de l'association mycorhizienne.

2. — Cultures en serres

2.1. Comportement de cinq variétés

Parmi les 20 variétés précédemment utilisées, 8 de celles-ci (« Azteca », « Champlein », « Chrismar », « Ducat », « Krasnodar », « Roazon », « Sirius » et « Wells ») présentent une corrélation négative hautement significative entre la fréquence d'infection et le rendement en grain (poids : $r = -0,868$; nombre : $r = -0,916$; $P < 0,01$).

Cinq de ces variétés (« Champlein », « Ducat », « Krasnodar », « Roazon » et « Sirius ») ont donc été cultivées en serres afin de déterminer si cette corrélation était maintenue dans d'autres conditions de culture.

a) Rendement

Les rendements obtenus, par plante, en serres, varient selon la variété entre 1,896 et 3,919 g pour le poids de paille, entre 1,402 et 2,382 g pour le poids de grain et entre 32 et 73 pour le nombre de grains.

Ces nouvelles conditions de culture permettent aussi de dégager des différences entre variétés dans la réponse des plantes à l'infection mycorhizienne (fig. 3a et b); en particulier, les tendances à l'augmentation des poids et nombre de grains observées en chambres climatisées pour « Ducat » et « Krasnodar » se confirment en serres ou s'atténuent au niveau du nombre de grains pour « Champlein »; par contre une tendance à la diminution apparaît au niveau du poids de paille pour « Sirius ».

L'effet de l'infection est plus marqué au niveau du rendement en grain (poids et nombre) et à nouveau les variations du poids de grain, même non significatives, s'accompagnent de variations de même sens de leur nombre.

b) Taux d'infection

Pour tous les cultivars, les nouvelles conditions de culture se traduisent par des augmentations significatives ($P < 0,05$) de l'intensité d'infection (fig. 4), alors que les variations de la fréquence d'infection entre plantes en chambres climatisées et celles en serres ne sont pas significatives. L'intensité d'infection semble donc plus sensible aux changements des conditions de culture que la fréquence.

Il n'existe pas de corrélation significative entre les variations du taux d'infection (fréquence et intensité) et celles des rendements; l'effet variétal sur l'expression de l'association mycorhizienne est donc maintenu sous ces nouvelles conditions de culture. En particulier, nous n'avons pu retrouver la corrélation existant précédemment entre fréquence d'infection et rendement en grain lors des cultures en chambres climatisées. De plus, l'augmentation du taux d'infection

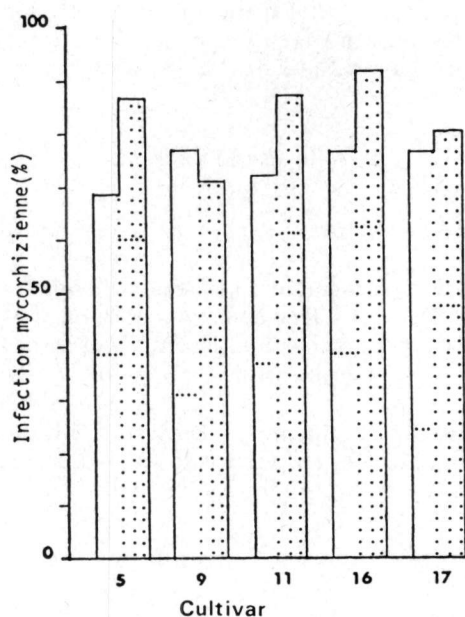


FIG. 4. — Variation des taux d'infection mycorrhizienne (—— fréquence, - - - intensité) de cinq cultivars de Blé en serres (▤) et en chambres climatisées (▢). 5, 9, 11, 16, 17 : voir figure 1

ne renforce pas obligatoirement le caractère stimulant d'une association mycorrhizienne.

2.2. Comportement de lignées presque isogéniques

L'étude a porté sur trois lignées de « Centana », isogéniques à l'exception des gènes de nanismes *Rht* de « Norin 10 » (lignées naine : MT 6 727 (*Rht*₁ et *Rht*₂); demi-naine : MT 6 722 (*Rht*₁); haute : MT 6 717; Mc NEAL et BERG, 1975; SUTY, 1978).

a) Rendement

Les rendements obtenus, par plante, varient, selon la lignée, entre 2,027 et 2,655 g pour le poids de paille, entre 1,537 et 1,825 pour le poids de grain et de 45 à 62 grains. Chaque lignée répond différemment à l'infection mycorrhizienne (fig. 5a et b); celle-ci augmente les rendements en paille et grain (poids : $P < 0,05$, nombre : $P < 0,1$) de la lignée demi-naine sans modifier de manière significative ceux des deux autres lignées. Comme précédemment, l'effet de l'infection mycorrhizienne est plus marqué au niveau du rendement en grain.

b) Taux d'infection

Le taux d'infection varie selon les lignées (fig. 5c), la plus forte infection étant trouvée pour la lignée naine et la plus faible pour la lignée demi-naine. Les différences enregistrées sont significatives, pour l'intensité, entre les lignées

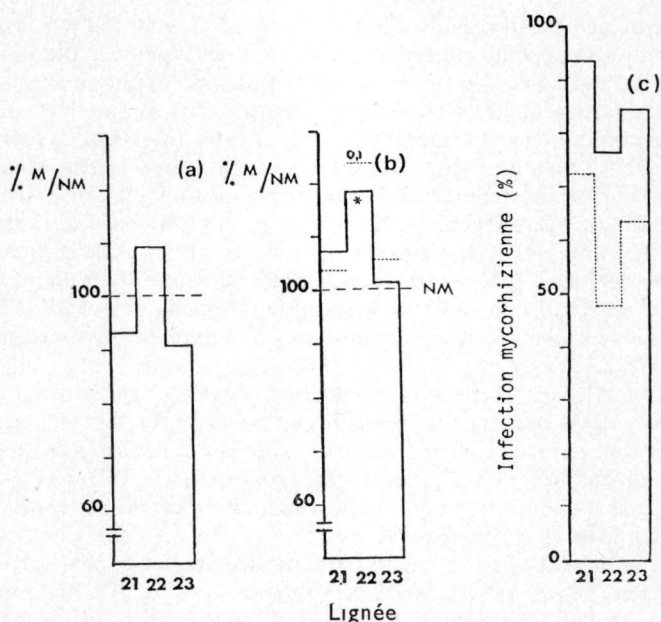


FIG. 5. — Effet de l'association mycorhizienne sur le rendement en paille (a) et grains (b) (---- nombre, ——— poids) de lignées presque isogéniques « Centana » (21 : nain, 22 : demi-nain, 23 : haut) et taux d'infection (c) (—— fréquence, ---- intensité). M, avec mycorhizes; NM, sans mycorhizes.

demi-naine (47,8 p. 100) et naine (72,5 p. 100) ($P < 0,01$) ainsi que pour la fréquence (respectivement 76,8 p. 100 et 93,6 p. 100) ($P < 0,05$).

Une corrélation significative entre les variations du taux d'infection et celles des rendements a été trouvée au niveau de l'intensité d'infection et du nombre de grains ($r = -0,963$, $P < 0,05$). Remarquons que les augmentations de rendement de la lignée demi-naine s'accompagnent du plus faible taux d'infection.

L'introgession de gènes *Rht* dans le génome du cultivar « Centana » est donc capable de modifier et les taux d'infection mycorhizienne et le type de réponse; pourtant les cultivars demi-nains « Courtot » (*Rht*₁), « Azteca » (*Rht*₂) et « Sonora 64 » (*Rht*₂) (fig. 1a et b), dérivés de « Norin 10 » (GALE et MARSHALL, 1978), ne présentent pas de réponse uniforme à l'infection mycorhizienne VA. La présence des gènes *Rht* ne semble pas pouvoir être liée directement à un type de réponse à l'infection mycorhizienne.

IV. — Conclusions

L'ensemble des résultats présentés ici met en évidence et souligne l'importance du génotype de la plante-hôte dans le développement et l'expression de l'association mycorhizienne VA. L'observation d'augmentations et d'inhibitions des rendements selon les cas fournit un support expérimental à l'hypothèse qu'une association endomycorhizienne peut être une symbiose mutualiste (augmentation

des rendements) ou parasitaire (diminution des rendements) (LEWIS, 1973); l'expression de la symbiosed épandrait, entre autres, du génotype de la plante-hôte utilisée.

La mise en évidence d'un effet variétal pourrait expliquer certains résultats discordants de la littérature comme, par exemple, des augmentations ou non des teneurs en certains éléments minéraux suite à une infection mycorhizienne VA (MOSSE, 1972 a; TINKER, 1975). Cet effet variétal, chez le Blé, pourrait être lié à l'existence d'un seuil d'efficacité de l'absorption du P du sol, variable selon les cultivars, comme déjà suggéré pour expliquer des réponses à l'infection mycorhizienne différentes selon les espèces (COOPER, 1975). Au-dessous de ce seuil, l'effet des mycorhizes VA serait principalement, ou entièrement, dû à l'amélioration de la nutrition phosphatée alors qu'au dessus de ce seuil d'autres phénomènes pourraient entrer en jeu, occasionnant des expressions parasitaires de l'infection mycorhiziennes.

Précédemment, des effets parasitaires observés transitoirement (CRUSH, 1973; COOPER, 1975) ou lors d'apports importants de P (MOSSE, 1973 b) avaient été expliqués soit par des concentrations toxiques en P, soit par une compétition entre plante et champignon endomycorhizogène pour le P du sol, soit enfin par un drainage par l'endophyte trop important, pour certaines espèces de plante-hôtes, de composés hydrocarbonés.

Le fait que nous n'ayons à aucun moment apporté de P à ce sol à faible teneur en P en solution (de 0,5 à 0,6 μg de P en solution /g de sol, J.C. FARDEAU, communication personnelle) nous permet de rejeter l'hypothèse de concentrations toxiques en cet élément. De même, si on estime que le taux d'infection est fonction de la biomasse de l'endophyte, et donc de ses besoins en P et composés hydrocarbonés, les hypothèses de compétition ou de biotrophie trop importante pourraient être écartés, car, d'une manière générale, nous n'avons pu mettre en relation taux d'infection et effet mycorhizien.

De nombreux microorganismes biotrophes détourneraient des composés hydrocarbonés de la plante hôte par la production ou l'induction de régulateurs de croissance (DEKHUIJZEN et PEGG, 1976). Ces substances pouvant diminuer les rendements (TIEN, GASKINS et HUBBELL, 1979) leur production éventuelle par les endophytes VA pourrait expliquer, par une sensibilité différentielle des variétés, tout ou partie des effets parasitaires observés. Une telle hypothèse a été retenue dans le cas de l'effet variétal observé chez le Mil inoculé par *Azospirillum brasilense* (BOULTON *et al.*, 1979); de plus, des diminutions du contenu en acide indol- β -acétique ont été observées chez la Tomate endomycorhizée (DEHNE, 1977), alors que de telles substances semblent pouvoir être synthétisées par quelques champignons ectomycorhizogènes (MOSER, 1959; SLANKIS, 1974).

L'effet variétal observé sous différentes conditions de culture permet de penser qu'une pression de sélection est possible voire souhaitable eu égard au comportement de certains cultivars. Ces résultats ayant été obtenus dans le cas de variétés sélectionnées, entre autres, pour leur réponse aux engrais, il serait donc intéressant d'étudier des espèces proches, au génome plus simple (tels que certains *Aegilops* et autres *Triticum*) et issues de populations non sélectionnées pour la culture intensive.

L'amélioration de l'efficacité des associations mycorhiziennes, impliquant la sélection des variétés ainsi que des études plus approfondies au champ, nous semble être une voie importante dans la recherche d'une valorisation du potentiel biologique des sols, ceci tant en vue d'améliorer les rendements que pour éviter d'éventuelles diminutions de ceux-ci.

Reçu pour publications en décembre 1979

Remerciements

Les auteurs remercient Monsieur P. DOMMERGUES pour son aide précieuse durant la réalisation de ce travail ainsi que Messieurs R. BODERGAT, J. KOLLER, A. VINCENT, M. ROUSSET et G. DOUSSINAULT des Stations d'Amélioration des Plantes (I.N.R.A.) de Dijon, Clermont-Ferrand et Rennes pour les graines fournies.

Summary

Development and expression of VA endomycorrhizas in wheat: evidence of a varietal effect

Plants infected with vesicular-arbuscular (VA) endophytes frequently take up more phosphorus and grow better than non-mycorrhizal plants. Whilst growth responses to VA mycorrhizal infections are known to differ widely from one plant species to another, information concerning intraspecific responses has been lacking. The influence of genotypic variations within a given species on the development and expression of a VA mycorrhiza was therefore studied using different cultivars of wheat.

The responses of 20 wheat cultivars (*Triticum aestivum* and *T. durum*) to infection with the VA mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* varied greatly from important yield increases (eg. « Azteca ») to significant yield depressions (eg. « Chrismar »), certain cultivars apparently being unaffected by the infection (eg. « Pascal »). The mycorrhizal effect was, in general, on grain (weight and number) yield. Large variations in mycorrhiza infection development were also observed but no correlation existed between these and yield response, suggesting that there was a varietal effect. This effect was maintained under different culture conditions (constant environment room and glasshouse).

Studies of 3 lines of the cultivar « Centana », isogenic except for the dwarfing genes *Rht* from « Norin 10 », showed that the mycorrhizal effect could be modified by the presence or absence of these genes. Whilst the dwarf line (*Rht₁ Rht₂*) was most susceptible to infection by the VA fungus, yield responses to the infection were greatest in the semi-dwarf line (*Rht₁*).

These results show the delicate balance that exists between parasitic (yield decreases) and mutualistic (yield increases) expressions within a symbiotic association and provide evidence that VA mycorrhiza development and its effect on the host plant are, at least in part, under the control of the plant genome. The possible nature and mode of action of such an eventual genetic control are discussed. The varietal effect observed underlines the importance of considering VA mycorrhizas in plant-breeding programs, as much for improving yields as for avoiding eventual yield depressions.

Références bibliographiques

- BOUTON J. H. *et al.*, 1979. Response of Pearl Millet inbreds and hybrids to inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Crop Sci.*, **19** (1), 12-17.
- COX G. C. et TINKER P.B.H., 1976. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. I. The arbuscule and phosphorus transfer: a quantitative ultrastructural study. *New Phytol.*, **77**, 371-378.
- COOPER K. M., 1975. Growth responses to the formation of endotrophic mycorrhizas in *Solanum*, *Leptospermum*, and New Zealand ferns. In: *Endomycorrhizas* (eds SANDERS F. E., MOSSE B., TINKER P. B.). Academic Press, pp. 391-407.
- CRUSH J. R., 1973. The effect of *Rhizophagus tenuis* mycorrhizas on ryegrass, cocksfoot and sweet vernal. *New Phytol.*, **72**, 965-973.
- DEHNE H. W., 1977. *Untersuchungen über den Einfluss der endotrophen mycorrhiza auf die Fusarium Welke an Tomate und Gurke*. Dissertation-Universität. Bonn.

- DEKHUIJZEN H. M. et PEGG G. F., 1976. Natural growth regulators. In: *Encyclopedia of Plant Physiology*. New Series Vol. 4. (eds HEITEFUSS, R. and WILLIAMS P. H.) Springer Verlag, pp. 526-614.
- DEVINE T. E. et WEBER D. F., 1977. Genetic specificity of nodulation. *Euphytica*, **26**, 527-535.
- ELLINGBOE A. H., 1976. Genetics of Host-Parasite interactions. In: *Encyclopedia of Plant Physiology*. New series vol. 4. Ed. by R. HEITEFUSS and P. H. WILLIAMS Springer-Verlag, pp. 761-778.
- GALE M. D. et MARSHALL G. A., 1978. A classification of the « Norin 10 » and Tom Thumb dwarfing genes in hexaploid bread wheat. *Proc. Vth Int. Wheat Genetics Symp.* (Delhi) (sous presse).
- GERDEMANN J. W., 1965. Vesicular-arbuscular mycorrhizae formed on maize and tuliptree by *Endogone fasciculata*. *Mycologia*, **57**, 562-575.
- GERDEMANN J. W., 1975. Vesicular-arbuscular Mycorrhizae. In: *The development and Function of roots*. Eds: TORREY J. G., CLARKSON D. T., Academic Press, pp. 575-591.
- GIANINAZZI-PEARSON V., 1976. Les mycorhizes endotrophes : état actuel des connaissances et possibilités d'application dans la pratique culturale. *Ann. Phytopath.*, **8** (3), 249-256.
- JESSOP R. S., 1974. Dependence on cultivar of wheat yield response to superphosphate. *Austr. J. exper. agric. anim. Husb.*, **14**, 387-390.
- LEWIS D. H., 1973. Concepts in fungal nutrition and the origin of biotrophy. *Biol. Rev.*, **48**, 261-278.
- MENGE J. A., JOHNSON E. L. V. et PLATT R. G., 1978. Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. *New Phytol.*, **81**, 553-559.
- MOSER M., 1959. Beiträge zur Kenntnis der Wuchstoffsbeziehungen im Bereich ectotrophen Mycorrhizen. *Arch. Mikrobiol.*, **34**, 251-269.
- MOSSE B., 1972. The influence of soil type and endogone strain on the growth of mycorrhizal plants in phosphate deficient soils. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*, **9**, 529-537.
- MOSSE B., 1973 a. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Ann. Rev. Phytopath.*, **11**, 171-196.
- MOSSE B., 1973 b. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza IV. In soil given additional phosphate. *New Phytol.*, **72**, 127-136.
- MOSSE B., 1978. Mycorrhiza and plant growth. In: *Structure and functioning of plant populations*. Verhandelingen der Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen, Afdeling Natuurkunde, Tweede Reekes, deel 70, 269-298.
- MCNEAL F. H. et BERG M. A., 1975. Registration of 11 germplasm lines of « Centana » hard red spring wheat. *Crop Sci.*, **15**, 892.
- PALMER B. et JESSOP R. S., 1977. Some aspects of wheat cultivar response to applied phosphate. *Plant and Soil*, **47**, 63-73.
- PEARSON V. et TINKER P. B. H., 1975. Measurement of phosphorus fluxes in the external hyphae of endomycorrhizas. In: *Endomycorrhizas*. Eds F. E. T. SANDERS, B. MOSSE and P. B. H. TINKER. Academic Press, 277-287.
- PHILLIPS J. M. et HAYMAN D. S., 1971. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. mycol. Soc.*, **55**, 158-161.
- SHARMA S. N., PANDA K. S., DIXIT L. A., PRASAD R., DE R., 1977. Étude de la réponse du blé aux engrais phosphatés. *Phosphore et Agriculture*, **71**, 11-17.
- SNEDECOR G. W. et COCHRAN W. G., 1971. *Méthodes Statistiques*. 6^e ed. A.C.T.A., Paris.
- SLANKIS V., 1973. Hormonal relationships in mycorrhizal development. In: *Ectomycorrhizae*. Eds. MARKS G. C. and KOZŁOWSKI T.T. Academic Press, 231-298.
- SUTY L., 1978. Étude de l'influence des gènes Rht₁ et Rht₂ (gènes de réduction de hauteur) sur la composition lipidique de plantules étioilées de Blé. D.E.A., Université de Dijon.
- TIEN T. M., GASKINS M. H. et HUBBELL D. H., 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of Pearl Millet (*Pennisetum americanum* L.). *Appl. Environ. Microbial*, **37** (5), 1016-1024.
- TINKER P. B., 1975. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on higher plants. In: *Symbiosis, Symp. Soc. Exp. Biol.* 29. University Press, Cambridge, 325-349.
- TINKER P. B., 1978. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on plant nutrition and plant growth. *Physiol. vég.*, **16** (4), 743-751.

Interaction variété-lieu : analyse du rendement d'orges de printemps

A. BERBIGIER, J.B. DENIS* et C. DERVIN*

*Station d'Amélioration des Plantes
Centre de Recherches de Clermont-Ferrand, I.N.R.A.,
Domaine de Crouelle, 63100 Clermont-Ferrand*

**Laboratoire de Biométrie
Centre national de Recherches agronomiques, I.N.R.A.,
route de St-Cyr, 78000 Versailles*

Résumé

Le dispositif ESBAN a permis le recueil du rendement de 48 variétés d'Orge de printemps pour 22 stations réparties en Europe. L'interprétation génotype-milieu de telles données pose des problèmes du seul fait de leur volume. Nous avons utilisé, pour résoudre cette difficulté, la méthode dite de structuration de l'interaction qui consiste à établir une typologie sur l'ensemble des lieux et sur l'ensemble des variétés.

Après une brève description du modèle (détaillé en annexe) nous en avons estimé les paramètres. L'interprétation que nous donnons tient compte non seulement de ces estimations, mais aussi des autres informations disponibles.

I. — Matériel

De plus en plus, les sélectionneurs essaient de tenir compte du fait que la plante exprime ses potentialités génétiques de manière différente suivant le milieu qui lui est fourni. C'est pour cette raison que l'on enregistre une augmentation importante des essais multi-locaux.

Depuis longtemps E.B.C. (European Brewery Convention) expérimente à un niveau européen des variétés d'orge susceptibles d'être acceptées par les industriels de la malterie et de la brasserie. En 1976, à l'initiative du regretté Dr FEEKES (Pays-Bas), a été créé le dispositif E.S.B.A.N. (European Spring Barley Adaptability Nursery) destiné à éprouver à un niveau européen la souplesse d'adaptation des nouvelles variétés d'orge de printemps.

En 1977, ce dispositif E.S.B.A.N. comportait une vingtaine de lieux pour une cinquantaine de variétés. Le Plant Breeding Institute (Cambridge), chargé de recueillir les données, reçut les résultats de 22 lieux pour 48 variétés. Le plan re-

commandé était un dispositif en 4 blocs complets; il a été suivi dans la majorité des cas (3 ou 5 blocs ont été parfois utilisés). La protection contre certains parasites (*Oidium*, Rouille jaune, *Rhynchosporium*) était assurée par des traitements fongicides. D'autres variables que le rendement (taille, verse, poids de 1 000 grains, précocité) sont disponibles dans certains lieux.

II. — Méthode

Dans cet article, une méthode simple est utilisée pour analyser l'interaction entre deux facteurs de variation. Il faut souligner que nous ne nous intéressons qu'au rendement moyen par variété-lieu et que nous prenons le point de vue de l'agronome qui, pour un lieu donné, doit choisir une variété. Dans une première partie, nous décrirons le modèle utilisé dit de « structuration de l'interaction »; puis, utilisant les données d'ESBAN 77, nous en estimerons les paramètres; enfin nous en discuterons les résultats.

a. — Description du modèle

Il n'est pas original puisqu'il a déjà été utilisé par BYTH, EISEMANN et de LACY (1976); il est décrit de manière approfondie par DENIS (1979). L'idée de base est simple : on regroupe simultanément les variétés d'une part et les lieux de l'autre. Les regroupements sont définis de façon à expliquer au mieux les variations interactives du rendement. On cherche à ce que les différences de comportement entre les variétés d'un lieu à l'autre, ne soient importantes qu'entre les groupes formés (sur les variétés comme sur les lieux). Les appréciations qui sont portées sur une variété ou un lieu sont alors valables pour toutes les variétés (ou tous les lieux) du même groupe, ce qui simplifie l'interprétation.

Définir des groupes équivaut à créer des facteurs nouveaux qui hiérarchisent les facteurs initiaux. Il s'agit donc d'un modèle à deux hiérarchies croisées. C'est à partir des SCE et des DDL qui lui correspondent que l'on pourra juger de la plus ou moins bonne adéquation du modèle aux données (cf définition du modèle en annexe).

Le point délicat de la méthode réside dans la détermination des groupes. Plusieurs procédures ont été proposées par DENIS (1979); nous ne discuterons donc pas ce point. Cependant, la définition des groupes en fonction des données elles-mêmes entraîne une conséquence qu'il faut souligner : les SCE ne suivent plus les distributions habituelles, il est donc impossible d'utiliser les tests classiques. Cette remarque n'enlève rien à l'intérêt de la méthode; elle pourrait d'ailleurs être présentée comme un examen particulier des résidus du modèle additif.

b. — Estimation des paramètres du modèle

1) Généralités

L'estimation dans le cadre de ce modèle prend un sens plus général qu'habituellement car, avant de donner des valeurs numériques aux paramètres, il faut déterminer le nombre et la composition des groupes sur les deux ensembles variétés et lieux.

Le modèle interactif complet s'écrit :

$$E(Y_{ij}) = m + v_i + l_j + (vl)_{ij} \quad (1)$$

où Y_{ij} est le rendement de la variété i au lieu j

v_i est l'effet principal de la variété i

l_j est l'effet principal du lieu j

$(vl)_{ij}$ l'interaction des couples variété-lieu

la définition et l'interprétation des paramètres étant assurées par les contraintes habituelles :

$$\sum_i v_i = \sum_j l_j = \sum_{ij} (vl)_{ij} = 0.$$

Nous ne ferons pas jouer le même rôle au facteur variété qu'au facteur lieu. Notre point de vue est de déterminer la ou les meilleures variétés pour un ou plusieurs lieux donnés. En conséquence, seuls les paramètres qui dépendent de la variété nous intéressent. Nous ne retiendrons donc que les termes $v_i + (vl)_{ij}$ pour choisir notre structuration. Cette manière de voir présente l'avantage de retirer l'effet lieu qui est toujours considérable et écrase l'effet d'interaction.

2) Deux tentatives

A titre exploratoire, nous avons tenté d'établir la structuration soit sur la partie interactive : $(vl)_{ij}$, soit sur sa somme avec l'effet principal variété : $v_i + (vl)_{ij}$.

La méthode employée pour la formation des groupes a été la classification automatique hiérarchique (DENIS, 1979; CAILLIEZ et PAGES, 1976). Pour chaque tentative sont présentées, dans le tableau 1, neuf structurations obtenues par la combinaison de trois classifications sur les lieux et de trois classifications sur les variétés. Dans chacun des cas, les trois classifications correspondent à différents niveaux de regroupement sur le dendrogramme; elles sont donc hiérarchiques les unes par rapport aux autres. Il faut noter que, dans les deux options, le regroupement des lieux est identique; en effet seul intervient pour les lieux le terme $(vl)_{ij}$.

L'examen des résultats ne permet pas une décision sans discussion. On constate que les carrés moyens et les F calculés augmentent quand le nombre de groupes formés (se traduisant par les DDL_r) diminue. On n'observe donc pas d'optimum dans le tableau. Nous avons cependant conservé un nombre de groupes élevé afin de ne pas perdre des nuances importantes au seul profit des coupures évidentes. Finalement, pour comparer facilement les 2 modèles, nous nous sommes arrêtés aux structurations AI et BI qui présentent la particularité d'avoir les mêmes nombres de groupes.

Ce choix peut sembler arbitraire : il est de même nature que tous ceux qui sont faits en classification automatique lorsque plusieurs coupures sont possibles dans la hiérarchie des partitions (dans notre cas pour les lieux : 8, 9 ou 16 groupes). Notre critère a été le F (rapport du Carré Moyen expliqué sur le Carré Moyen non-expliqué) qui se trouve maximal pour 8 groupes de lieux. Il est probable qu'en réduisant encore le nombre de groupes, on obtiendrait une augmentation de ce F. Nous ne l'avons pas envisagé car, en tronquant trop brutalement l'information,

TABLEAU I

Résultats pour l'interaction des 2 tentatives. Les trois valeurs sont dans l'ordre : les degrés de liberté, la SCE expliquée et le F calculé (rapport des Carrés Moyens expliqués et non expliqués; la SCE totale vaut 154. Sous chaque code de classification se trouve le nombre de groupes qui le caractérise).

Classification sur les variétés

Classification sur les lieux

		I (8)	II (9)	III (16)
Sur (vl) _{ij}	A (19)	126 69 5.6	144 74 5.4	270 97 4.5
	B (21)	140 73 5.4	160 78 5.3	300 103 4.7
	C (35)	238 83 3.7	272 89 3.6	510 123 4.2
sur v _i + (vl) _{ij}	a (13)	84 58 6.5	96 63 6.4	180 80 4.8
	b (19)	126 68 5.4	144 74 5.4	270 97 4.5
	c (38)	259 83 3.3	296 90 3.2	555 124 3.2

on négligerait des caractéristiques de second ordre néanmoins fondamentales. (A la limite, il ne resterait que la Finlande contre tous les autres lieux).

Bien qu'utilisant la statistique du F calculé, nous n'interprétons pas d'analyse de variance globale pour deux raisons. D'une part il s'agit d'un regroupement d'essais très hétérogènes et nous avons pu constater que les variances Erreur variaient dans un rapport de 1 à 10! Et surtout, la méthode que nous employons relève plus de la description des données et de la recherche de conjectures que de l'inférence statistique.

III. — Résultats

a. — *Choix d'une structuration*: comparaison des deux structurations AI et bI

On remarque que les F de l'interaction sont pratiquement égaux! Théoriquement on aurait pu s'attendre à une meilleure performance du modèle AI puisqu'il n'était ajusté qu'en fonction de la seule interaction, tandis que pour le modèle bI on tenait compte également de l'effet principal variété. Le tableau 2 fournit quelques caractéristiques des deux structurations. La supériorité de bI sur AI y est lisible. Le carré moyen de bI pour la résiduelle de l'effet principal

TABLEAU 2

Comparaison des deux structurations AI et bI
La première valeur concerne AI, celle du dessous bI

	Expliqué par la structuration			Résiduelle		
	SCE	DDL	CM	SCE	DDL	CM
Interaction	69.4 68.1	126 126	0.55 0.54	84.7 85.9	861 861	0.10 0.10
Effet principal variété	168.3 207.2	18 18	9.3 11.5	43.4 4.5	30 30	1.4 0.15
Effet principal lieu	1070 1070	7 7	153 153	586 586	14 14	41 41

variété vaut 0,15; il est du même ordre de grandeur que ceux de l'interaction (0,10) et bien inférieur à ceux de l'effet interaction retenu par la structuration (0,54), contrairement à ce qui se passe pour AI. C'est donc la structuration bI que nous avons retenue. Elle est définie dans les tableaux 3 et 4.

b. — Valeur des estimations

Le modèle auquel nous avons abouti est le suivant :

$$E(Y_{ij}) = m + a_{k(i)} + b_j + \theta_{k(i)n(j)} \quad (2)$$

où les fonctions $k(i)$ et $n(j)$ donnent les numéros des groupes auxquels appartiennent la variété i et le lieu j . Comme nous l'avons déjà signalé plus haut, nous ne nous intéressons pas à l'effet principal lieu, et n'avons donc interprété que les moyennes ajustées pour les lieux, c'est-à-dire :

$$R_{ij} = m + a_{k(i)} + \theta_{k(i)n(j)} \quad (3)$$

Ces estimations sont données dans le tableau 5. Pour une lecture plus facile nous avons modifié l'ordre des lignes et des colonnes suivant la procédure déjà utilisée par DENIS (1977). On calcule les premiers vecteurs singuliers ligne et colonne associés à la matrice R_{ij} ; l'ordre de leurs composantes définit les permutations à appliquer. On réalise ainsi globalement pour chaque ligne et chaque colonne un tri approximatif. C'est également une approche de la meilleure représentation linéaire comme l'a montré HARTIGAN (1975). On remarquera aussi que la variabilité des rendements des groupes variétés décroît de la première colonne (groupe milieu 5) à la dernière (groupe milieu 6).

IV. — Discussion

a. — Groupement des lieux (tabl. 3)

Il est intéressant de vérifier si les regroupements effectués sur la base des rendements peuvent également être significatifs en ce qui concerne certaines caractéristiques des lieux. On peut, pour tester ceci, calculer la statistique F de l'analyse de la variance à un facteur de telles caractéristiques le facteur étant défini par les groupes formés. Nous l'avons fait pour toutes les données disponibles, à savoir : la date de semis et des données climatiques moyennes recueillies dans les cartographies de l'atlas de THRAN et BROEKHUIZEN (1965). Les résultats, pour les variables qui sont significatives, sont les suivants :

F date de semis	= 3,1 significatif à 0,05
F augmentation de température de mai à juillet	= 4,3 significatif à 0,01
F moyenne des pluies de mai	= 4,6 significatif à 0,01
F totalité des pluies durant la période de végétation	= 7,1 significatif à 0,001

TABLEAU 3

Liste des lieux et quelques caractéristiques

N° de code	Lieu	N° de groupe $n(j)$	Pays	Rendement 1	Poids de 1 000 g 2	Précocité 3	Date de semis 4
18	Aberystwyth . . .	1	Royaume-Uni . .	67	—	82	85
20	Edimbourg . . .	1	Royaume-Uni . .	63	—	79	94
7	Bersee	2	France	54	36.0	94	67
8	Wurzburg	2	R.F.A.	49	40.2	80	70
9	Stuttgart	2	R.F.A.	58	46.3	93	76
10	N.E. Polder . . .	2	Hollande	48	—	—	84
19	Cambridge	2	Royaume-Uni . .	59	—	86	84
21	RPB Lincolnshire	2	Royaume-Uni . .	43	—	118	62
3	Tystofte	3	Danemark	49	44.2	66	106
5	Boigneville . . .	3	France	54	36.8	88	69
6	Clermont-Fd . . .	3	France	46	39.3	93	63
11	Elst	3	Hollande	26	—	92	75
12	Westpolder . . .	3	Hollande	27	37.2	—	89
14	Backweston . . .	3	Irlande	39	45.8	81	88
15	Bakow	3	Pologne	35	42.3	74	124
16	Shr Polanowice . .	3	Pologne	48	51.9	62	106
17	Svalöf	3	Suède	57	44.3	54	128
1	Bastogne	4	Belgique	23	34.6	65	126
2	Kromeriz	5	Tchécoslovaquie .	67	45.3	80	83
4	Nikkila	6	Finlande	49	36.6	55	147
13	Martonvasar . . .	7	Hongrie	39	—	72	88
22	Freising	8	R.F.A.	58	—	90	—

1 : en quintaux/hectare

2 : en grammes

3 : en jours du semis à l'épiaison

4 : en jours depuis le 1^{er} janvier

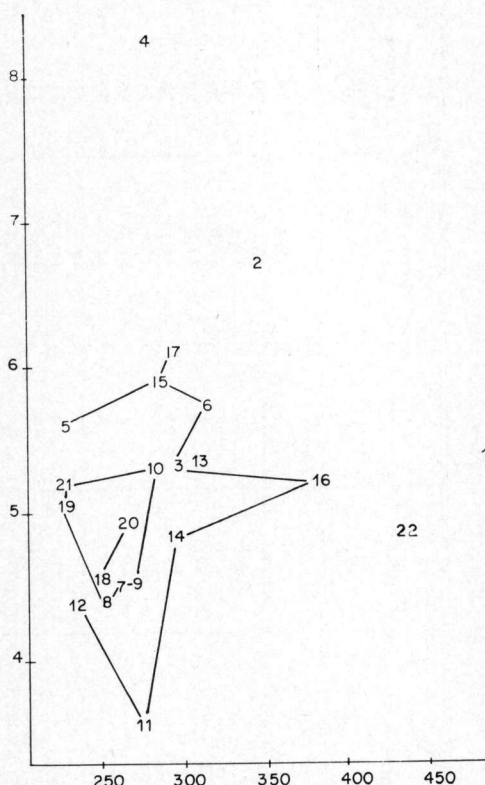


FIG. 1. — Répartition des 22 lieux pour 2 critères climatiques; en abscisses: somme des pluies durant la période de végétation (mm); en ordonnées: augmentation de température de mai à juillet (degrés), (les trois groupes de lieux composés de plus d'un élément sont figurés par une liaison en traits légers. Ils sont concentriques et de valeurs plus faibles que les groupes unitaires).

Cependant, comme c'est visible dans la figure 1, ce sont les groupes n'ayant qu'un élément qui sont responsables de ces tests F significatifs.

On trouve en effet dans le groupe 3 des lieux comme Clermont et Svalöf dont les dates de semis ont été très différentes (tabl. 3).

On peut aussi trouver, dans un même groupe, des milieux climatiques assez différents. Le groupe 3 est particulièrement significatif à cet égard. Ceci met en relief l'importance du sol, des techniques culturales dans la définition du milieu.

Les chiffres du tableau 3 (lieux) appellent quelques remarques. On constate une liaison entre date de semis et précocité, les semis tardifs entraînant un raccourcissement de la phase semis-épiaison. C'est un phénomène bien connu.

A l'intérieur de certaines limites, vraisemblablement, le rendement est indépendant de la précocité. Il suffit de considérer les chiffres relatifs à Svalöf et à Backweston, par exemple, pour s'en assurer. On peut apprécier, ainsi, l'importance du phénomène de compensation. Toutefois, ce phénomène doit avoir des limites et le tableau ne permet pas de prédire si des rendements élevés (67 quintaux/hectare par exemple) sont conciliables avec une grande précocité.

On constate enfin que la précocité n'est pas un facteur de groupement des lieux non plus que le rendement moyen.

TABLEAU 4

Liste des variétés et quelques caractéristiques

N° code	Variété	N° du groupe $k(i)$	Origine	Rendement (1)	Taille (2)	Poids de 1 000 grains (3)	Précocité (4)
13	« Trumpf »	1	R.D.A.	108	74	40,4	81
18	« H 150 »	1	R.F.A.	110	74	43,2	79
31	« RPB 471 /72 »	1	Grande-Bretagne	108	79	40,4	80
35	« Aramir »	1	Pays-Bas	110	78	42,9	80
36	« Cebeco 7 311 »	1	Pays-Bas	110	74	42,4	80
40	« HO 465 »	1	Belgique	113	85	44,7	77
46	« CF 25 »	1	France	108	77	45,4	75
11	« Sv 68 241 »	2	Suède	108	74	41,3	80
16	« Kiebitz »	2	R.F.A.	108	79	42,1	80
22	« Indira »	2	R.F.A.	107	84	40,2	84
33	« HB 878 /631 »	2	Grande-Bretagne	107	82	41,1	83
10	« Sv 72 190 »	3	Suède	101	80	39,9	84
30	« Ark Royal »	3	Grande-Bretagne	101	81	37,3	86
14	« Union »	4	R.F.A.	98	86	40,5	79
15	« Carina »	4	R.F.A.	99	82	40,6	80
23	« Adorra »	4	Autriche	103	85	42,6	79
24	« Uta »	4	Autriche	105	77	44,9	83
25	« Multum »	4	Autriche	104	83	48,5	78
27	« MV 46 »	4	Hongrie	102	84	41,2	78
42	« Berenice »	4	France	102	85	45,9	79
43	« Betina »	4	France	100	70	42,2	82
48	« Velebit »	4	Yougoslavie	99	87	45,2	79

8	« Tellus »	5	Suède	103	82	42,9	81
12	« Zita »	5	Danemark	105	75	39,9	79
19	« H 172 »	5	R.F.A.	101	78	45,5	78
32	« Maris Mink »	5	Grande-Bretagne	102	67	39,6	83
37	« Julia »	5	Pays-Bas	103	79	41,6	81
38	« Mazurka »	5	Pays-Bas	105	86	42,2	78
39	« Pirouette »	5	Pays-Bas	106	76	42,1	79
20	« Nudinka »	6	R.F.A.	90	79	38,1	82
21	« Hora »	6	R.F.A.	87	83	37,2	82
5	« Moyar »	7	Norvège	96	83	37,8	81
7	« Ingrid »	7	Suède	95	84	40,2	80
26	« MK 42 »	7	Hongrie	96	88	40,1	76
44	« Ceres »	7	France	100	87	44,1	81
1	« Karri »	8	Finlande	92	82	38,1	81
6	« Gunilla »	8	Suède	95	78	38,3	78
2	« Otra »	9	Finlande	65	86	35,6	70
3	« Lise »	10	Norvège	80	86	36,7	78
4	« Varde »	11	Norvège	67	87	36,7	73
9	« Mona »	12	Suède	92	70	42,5	73
17	« H 109 »	13	R.F.A.	102	83	41,7	79
28	« MK 421 »	14	Hongrie	96	75	47,4	74
29	« Georgie »	15	Grande-Bretagne	109	72	45,0	79
34	« HB 889/40 »	16	Grande-Bretagne	104	70	39,7	84
41	« Athos »	17	France	104	80	42,0	81
45	« CF 20 »	18	France	105	68	42,2	79
47	« CF 113 »	19	France	90	85	42,3	79
	Moyenne				79,8	41,5	79,5

(1) : en p. 100 de la moyenne générale de 22 lieux (M.G. = 48 quintaux/hectare)

(2) : taille en centimètres (moyennes de 19 lieux)

(3) : poids de 1 000 grains en grammes (moyennes de 14 lieux)

(4) : précocité, en jours du semis à l'épiaison (moyennes de 20 lieux)

b. — *Groupement des variétés* (tabl. 4)

Des variétés à type de développement et structure du rendement différents peuvent coexister dans le même groupe ex : « CF 25 », précoce, à gros grains et « Trumpf », demi-tardive, à grain moyen à petit dans le groupe 1.

De même, des variétés d'origines géographiques différentes peuvent être regroupées. Le groupe 1 et le groupe 5 sont particulièrement significatifs à cet égard.

Ceci signifie qu'un bon comportement variétal (dans les limites de l'aire couverte par les essais et pour l'année en cause) peut être obtenu par des voies génotypiques différentes. C'est une observation intéressante pour le sélectionneur qui est ainsi encouragé à diversifier son matériel.

On remarquera aussi que les variétés productives ne sont pas toutes dans le même groupe bien que la plupart soient dans le groupe 1. Ex : « Sv 68 241 » est dans le groupe 2 « Georgie » forme un groupe à part (15). Ceci est une preuve (si elle était nécessaire...) du rôle qu'ont joué les effets d'interaction dans la structuration.

c. — *Rendements*

En examinant le tableau 5 (moyennes ajustées pour l'effet lieu), on constate que certains groupes variétaux interagissent assez faiblement avec le milieu. On peut citer, par ordre de rendement moyen décroissant, les groupes 1, 2, 5, 4, 7.

TABLEAU 5

Moyennes ajustées pour l'effet lieu du rendement sur les groupes formés en b1
 en colonne : numéro du groupe de lieux ($n(j)$)
 en ligne : numéro du groupe de variétés ($k(i)$).

	5	7	2	8	1	3	4	6
15	6.6	5.8	5.3	5.8	5.1	5.2	4.6	4.4
1	5.5	5.3	5.2	5.5	5.2	5.1	5.4	4.7
18	5.7	4.3	5.1	5.8	5.4	5.0	4.8	4.5
16	5.3	4.8	5.1	5.0	5.1	4.9	4.8	4.1
2	4.8	4.9	5.3	4.9	5.4	5.0	5.0	5.0
5	5.2	5.2	4.9	4.9	5.0	4.9	4.6	4.9
4	4.7	5.0	4.9	4.7	4.6	4.8	5.1	4.7
13	5.1	5.2	4.7	4.2	4.1	4.9	5.4	4.9
17	3.7	5.4	5.0	5.6	4.0	5.0	4.6	5.2
3	4.4	4.3	5.1	4.7	5.5	4.7	4.0	5.0
12	5.0	5.1	4.2	4.4	4.6	4.5	3.5	4.6
14	4.1	4.6	4.5	5.3	4.3	4.7	4.8	3.4
7	4.4	4.6	4.7	4.4	4.6	4.7	4.3	4.8
8	4.7	4.1	4.4	4.1	5.1	4.4	4.7	4.8
19	4.4	3.7	4.2	4.2	4.1	4.5	4.4	4.9
6	3.9	4.3	4.1	4.2	4.2	4.3	4.1	4.5
10	3.0	2.6	3.3	3.5	3.2	4.2	5.1	5.4
11	2.9	2.9	2.6	2.9	2.8	3.5	4.2	4.9
9	2.3	2.7	2.3	3.2	3.6	3.4	4.0	5.1

Par contre d'autres groupes (ou variétés) interagissent fortement avec certains milieux. Les orges à 6 rangs « Otra » (groupe variété 9), « Lise » (groupe variété 10), « Varde » (groupe variété 11) se comportent beaucoup mieux à Nikkila (groupe lieu 6) que dans la plupart des autres lieux. Nikkila fut un milieu très précoce (55 jours) où le poids moyen de 1 000 grains fut relativement faible (36,6 g). Dans ces conditions, la fertilité d'épi fut une composante importante du rendement. La fertilité d'épi a des valeurs élevées chez ces orges à six rangs qui ont par contre un petit grain et une capacité de tallage relativement faible.

Si on se réfère aux résultats par essai, on constate que Nikkila (Finlande) provoque des comportements extrêmes de la part de certaines variétés.

L'orge « MK 421 » (groupe variété 14), qui est une variété précoce à très gros grain s'est très mal comportée à Nikkila.

Poids de 1 000 grains de « MK 421 » à Nikkila	: 35,7 g
Moyenne du lieu	: 36,6 g
Moyenne de la variété sur 14 lieux	: 47,4 g
Moyenne générale	: 41,5 g

A l'inverse de ce qui s'est passé pour d'autres variétés précoces, la précocité de « MK 421 » s'est accentuée à Nikkila : — 7 jours par rapport à la moyenne du lieu. Il pourrait s'agir d'une réaction à la photopériode.

Cette variété fut en conséquence très courte : 45 cm soit 69 p. 100 de la moyenne du lieu (65 cm).

Ceci explique la baisse relative du poids du grain et le mauvais comportement de « MK 421 » à Nikkila.

« HB 889/40 » (groupe variété 16) est une orge demi-naine, tardive, qui s'est également mal comportée en Finlande :

Poids de 1 000 grains à Nikkila	: 30,3 g
Moyenne de la variété	: 39,7 g

La tardiveté de « HB 889/40 » (« Yamina ») s'est accentuée à Nikkila (+ 8 jours par rapport à la moyenne du lieu). Cette difficulté de développement fut liée à la fois au caractère demi-nain et à la tardiveté de la variété. Elle explique que le processus de migration ait été affecté.

Si on se réfère aux résultats par variété, on constate que les variétés très précoces ou tardives sont les moins stables en matière de précocité et de rendement. Quelques exemples sont donnés dans le tableau 6.

Chez l'orge précoce « CF 25 », cependant, précocité et rendement sont relativement stables selon les milieux.

A partir du tableau 5, on peut faire quelques observations intéressantes à propos du comportement de certaines variétés.

Des orges tardives comme « Ark Royal », « Sv 72.190 » (groupe variété 3) se sont beaucoup mieux comportées en milieu maritime (groupe lieu 1) qu'en milieu continental (groupes lieux 5, 7). C'est une observation relativement triviale. A l'inverse de « HB 889/40 », elles se sont également bien comportées à Nikkila.

Si on considère « Ark Royal », qui est la plus tardive des deux, sa tardiveté ne s'est pas accentuée à Nikkila (+ 5 jours par rapport à la moyenne du lieu). Son poids de 1 000 grains fut de 35,7 g (moyenne variétale : 37,3 g). Sa taille relative fut 118 p. 100 de la moyenne du lieu (soit 77 cm en valeur absolue) et son rendement relatif 111 p. 100.

TABLEAU 6

Variation de précocité et de rendement chez des orges précoces ou tardives et chez « Aramir »

Entre parenthèses le groupe-variété	Précocités relatives (1)	Précocité moyenne (2)	Rendements relatifs (1)	Rendement moyen (2)
« Otra » (9) . . .	89-103	88	31-109	65
« Mona » (12) . .	85-102	91	45-109	92
« MK 421 » (14) .	84-103	93	67-111	96
« Ark Royal » (3)	100-117	108	61-122	101
« Aramir » (1) . .	96-104	100	101-126	110
« CF 25 » (1) . .	90-98	94	93-124	108

(1) = en pourcentage de la moyenne du lieu

(2) = en pourcentage de la moyenne générale

« Ark Royal » est une variété tardive mais non demi-naine qui s'est bien développée à Nikkila.

« Georgie » (groupe variété 15) fut excellente en milieu continental (groupes lieux 5, 7, 8) sans qu'on puisse expliquer ce comportement avec les données dont on dispose.

V. — Conclusion

On perçoit, à la lecture de ce qui précède, la diversité des comportements variétaux selon les milieux et l'insuffisance des données dont nous disposons pour expliquer ces comportements. Il nous semble que les recherches en matière de physiologie du développement devraient avoir une priorité. Il est en tout cas indispensable de diversifier les milieux d'essais. Ce résultat peut être obtenu par différents moyens : semis échelonnés; extension géographique des réseaux d'essais... A cet égard E.S.B.A.N. apporte plus d'information qu'un essai multilocal de même importance qui eut été réalisé dans une aire géographique plus restreinte, par exemple dans un seul des pays coopérateurs.

Lorsqu'on examine le tableau 4, la progression en matière de rendement apparaît évidente pour le spécialiste de l'amélioration. On peut comparer les groupes variétés 1, 2, 5, 4 par exemple. Cette comparaison est faite dans le tableau 7.

Les groupes 1 et 2 sont plus « récents », comportant respectivement cinq variétés non dénommées sur sept et deux sur quatre. Les groupes 5 et 4 sont plus « anciens »; ils comportent respectivement une variété non dénommée sur sept et une sur neuf.

Les caractéristiques du groupe 1 montrent que la tendance actuelle au raccourcissement de la paille n'est pas incompatible avec l'amélioration du rendement.

On voit encore, dans le tableau 4, que les variétés peu productives sont des variétés à grain nu, des variétés nordiques (particulièrement norvégiennes, finlandaises), des variétés hongroises. On remarquera que chacune des Stations de Nikkila et Martonvasar constitue à elle seule un groupe lieu. On comprend

TABLEAU 7

Comparaison des groupes-variétés 1, 2, 5, 4

Groupe-Variété	Rendement (1)	Taille (2)	Poids de 1 000 grains (3)	Précocité (4)
1	110	73	43	79
2	107	80	41	82
5	104	78	42	80
4	101	82	43	80

(1) = en % de la moyenne générale

(2) = en centimètres

(3) = en grammes

(4) = en jours du semis à l'épiaison

aisément que ces milieux ne soient pas favorables à la sélection de variétés bien adaptées à l'aire couverte par les essais.

La progression du rendement ne peut pas toujours être expliquée de façon satisfaisante. En fait, des progrès peuvent être obtenus par différentes voies ou par une combinaison de différentes voies : amélioration des potentiels de migration, de stockage; amélioration de la capacité de « résistance » au milieu, etc...

L'appréciation de ces potentiels ou de ces résistances soulève parfois des difficultés. Ex : des variétés qui paraissent identiques, visuellement, quant à leur sensibilité à tel parasite peuvent réagir différemment à un traitement fongicide. Il faudrait connaître également les réactions des variétés à la température, à la photopériode, leur besoin éventuel de froid (qui peut exister même chez des variétés dites « de printemps »).

L'évaluation d'un génotype est une affaire complexe. Le sélectionneur est aussi handicapé par le fait que les variétés se renouvellent fréquemment. Le travail d'amélioration tel qu'il est conçu actuellement intègre tous les paramètres que nous avons évoqués ci-avant en évaluant leur résultat final c'est-à-dire le rendement. Une connaissance aussi fine et analytique que possible des génotypes devrait être l'un des soucis du sélectionneur; elle est nécessaire au progrès en ce qui concerne l'amélioration de l'espèce et la prévision du comportement variétal.

On soulignera enfin que la plupart des remarques qui ont été faites ci-avant se sont dégagées aisément grâce à la méthode utilisée. Celle-ci se révèle donc efficace pour l'analyse de l'interaction entre deux facteurs comportant chacun un grand nombre de niveaux.

Reçu pour publication en novembre 1979

Summary

Variety-site interaction: spring barley yield analysis

The device ESBAN allowed to collect the yield data of forty eight spring barley varieties for twenty two stations distributed in Europe. The interpretation of the genotype-environment interaction on such data sets a problem by the mere fact of the volume of the estimations. To

work out that difficulty we used the method called « structuration of the interaction » which consists in establishing a typology on the variety set and on the site set. After a brief description of the model (detailed in annex), we estimated its parameters. Our interpretation takes into account not only these estimations but also other available informations.

Références bibliographiques

- BERTIN J., 1973. *Sémiologie graphique*. 2^e éd. Gauthier-Villars, Paris, 431 p.
 BYTH D. E., EISEMAN R. L. et DE LACY I. H., 1976. Two way pattern analysis of a large data set to evaluate genotypic adaptation. *Heredity*, **37**, 215-230.
 CAILLIEZ F. et PAGÈS J. P., 1976. *Introduction à l'analyse des données*. Smash, Paris, 616 p.
 DENIS J. B., 1977. *Structuration de l'interaction*: ESBAN 76. Note interne du laboratoire de Biométrie de l'I.N.R.A., Versailles, 64 p.
 DENIS J. B., 1979. Structuration de l'interaction (proposé à *Biométrie-Praximétrie*).
 HARTIGAN J. A., 1975. *Clustering Algorithms*. Wiley, New York, 351 p.
 KIRBY E. J. M. et APPLEYARD Margaret, 1979. Effects of photoperiod on the relation between development and yield of a range of spring barley varieties (communication personnelle). Plant Breeding Institute, Trumpington, Cambridge.
 RIGGS T. J., 1979. Notes on ESBAN trials 1976 (communication personnelle). Plant Breeding Institute, Trumpington, Cambridge.
 THRAN P. et BROEKHUIZEN S., 1965. *Agroclimatic Atlas of Europe*. Elsevier Publishing Company, Amsterdam.

Annexe. — Modèle de structuration

a. — Le modèle mathématique

Il s'écrit de la manière suivante :

$$E(Y_{ij}) = m + a_{k(i)} + b_{h(j)} + \theta_{l(i)n(j)} \quad (4)$$

Les fonctions k , h , l et n définissent les groupes qui structurent les niveaux des facteurs variété et lieu, avec la contrainte que k et l d'une part et h et n d'autre part soient liés hiérarchiquement. C'est-à-dire que les découpages pratiqués pour les effets principaux et l'interaction doivent être cohérents (dans notre cas particulier $h(j) = j$ est hiérarchique de n'importe quelle partition). Bien entendu des conditions supplémentaires sont nécessaires pour que le modèle soit défini.

b. — *Exemple*: si sur 22 lieux on définit 3 groupes tels que :

groupe 1 : lieux 1 à 13
 groupe 2 : lieux 14 à 20
 groupe 3 : lieux 21 à 22

pour l'effet principal et si, pour l'interaction, on reprend les mêmes groupes en redécoupant les deux premiers en deux sous groupes :

sous-groupe 1 : lieux 1 à 6
 sous-groupe 1' : lieux 7 à 13
 sous-groupe 2 : lieux 14 à 16
 sous-groupe 2' : lieux 17 à 20

alors les fonctions h et n valent :

$h(j) = 1$ et $n(j) = 1$ pour j variant de 1 à 6,
 $h(j) = 1$ et $n(j) = 2$ pour j variant de 7 à 13,
 $h(j) = 2$ et $n(j) = 3$ pour j variant de 14 à 16,
 $h(j) = 2$ et $n(j) = 4$ pour j variant de 17 à 20,
 $h(j) = 3$ et $n(j) = 5$ pour j variant de 21 à 22.

c. — Décomposition des sommes de carrés d'écart

Le modèle défini en (4) est linéaire de type analyse de variance. Les critères de décision seront donc basés sur les SCE, Carrés Moyens et autres F calculés. Pour les cas orthogonaux et lorsque $k(i) = l(i)$, $h(j) = n(j)$ les décompositions de SCE se font très simplement. Par exemple dans le cas de l'effet principal lieu si

j varie de 1 à J ,

$h(j)$ varie de 1 à H ,

X_j est le rendement moyen du lieu j ,

$X_{h(j)}$ est le rendement moyen de l'ensemble des lieux du groupe du lieu j .

$X.$ est la moyenne générale, on vérifie que

$$\sum_j (X_j - X.)^2 = \sum_j (X_{h(j)} - X.)^2 + \sum_j (X_j - X_{h(j)})^2$$

c'est à dire que la SCE totale de l'effet principal se décompose en un effet Inter-groupe (B) et un effet Intra-groupe (W), que nous noterons

$$SCE_{.T} = SCE_{.B} + SCE_{.W} \quad (5)$$

Les degrés de liberté correspondants sont :

$$(J - 1) = (H - 1) + (J - H) \quad (6)$$

De la même manière, pour le facteur variété, on a

$$SCE_{T.} = SCE_{B.} \times SCE_{W.} \quad (7)$$

En ce qui concerne l'interaction, on retrouve le même genre de schéma

$$SCE_{TT} = SCE_{BB} + SCE_{BW} + SCE_{WB} + SCE_{WW} \quad (8)$$

(Le premier indice correspond au facteur variété, le second au facteur lieu). Les degrés de liberté respectifs sont :

$$(I - 1)(J - 1) = (H - 1)(K - 1) + (K - 1)(J - H) + (I - K)(H - 1) + (I - K)(J - H)$$

d. — *Interprétation par les 2×2 contrastes*

Les 2×2 contrastes sont la généralisation, au cas de l'interaction, des différences entre 2 niveaux d'un effet principal. Ils sont la différence, pour deux niveaux d'un facteur, des écarts sur deux niveaux de l'autre facteur.

$$(Y_{ij} - Y_{ij'}) - (Y_{i'j} - Y_{i'j'}) = (Y_{ij} - Y_{i'j}) - (Y_{ij'} - Y_{i'j'}) \quad (9)$$

Dans le modèle de structuration de l'interaction

— Si i et i' , appartiennent au même groupe et j et j' appartiennent au même groupe alors le 2×2 contraste correspond à SCE_{WW} ,

— Si i et i' n'appartiennent pas au même groupe et j et j' appartiennent au même groupe alors le 2×2 contraste correspond à SCE_{BW} .

— Si i et i' appartiennent au même groupe et j et j' n'appartiennent pas au même groupe alors le 2×2 contraste correspond à SCE_{WB} .

— Si i et i' n'appartiennent pas au même groupe et j et j' n'appartiennent pas au même groupe alors le 2×2 contraste correspond à SCE_{BB} . Ceci est représenté schématiquement dans la figure 2.

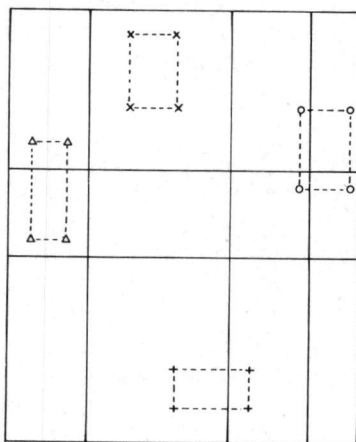


FIG. 2. — Représentation graphique des divers types de 2×2 contrastes pour le modèle de structuration de l'interaction

Le grand rectangle figure le tableau des observations dans lequel les lignes verticales et horizontales délimitent les groupes de la structuration.

- 2×2 contraste de type BB
- × 2×2 contraste de type WW
- Δ 2×2 contraste de type BW
- + 2×2 contraste de type WB

Dans la pratique les modèles de structuration utilisés ne retiennent que la SCE_{BB} comme significative et le modèle correspond bien alors à la concentration de l'interaction dans la double structure : pour qu'un 2×2 contraste soit significatif, il faut à la fois « changer de groupe » sur les variétés et sur les lieux.

Influence de la présence des gènes *Rht1* et *Rht2* (gènes de réduction de hauteur) sur la composition lipidique de plantules étiolées de Blé

Lydie SUTY et A. VINCENT

Station d'Amélioration des Plantes
Centre de Recherches de Dijon, I.N.R.A.,
B.V. 1540, 21034 Dijon cedex

Résumé

La composition en phospholipides et en acides gras d'extraits lipidiques de plantules étiolées de blé de six jours a été étudiée sur trois lignées isogéniques dérivées du blé de printemps « Centana » et sur trois lignées isogéniques dérivées du blé d'hiver « Burt ». Ces lignées diffèrent par la présence ou non dans leur génome des gènes de réduction de hauteur *Rht1* et *Rht2* : C_{10} et B_{10} (*Rht1* + *Rht2*), C_{20} (*Rht1*), B_{20} (*Rht2*), C_{30} et B_{30} (absence des deux gènes : *aRht*). La séparation des phospholipides par chromatographie sur couches minces (TLC) suivie d'une analyse quantitative par dosage du phosphore a permis de mettre en évidence, sur les lignées dérivées de « Centana », une évolution des proportions des phospholipides majeurs : phosphatidyl choline (PC), phosphatidyl éthanolamine (PE) phosphatidyl glycérol (PG), acide phosphatidique (PA).

Les rapports $\frac{PE}{PC}$ et $\frac{PG}{PC}$ décroissent en fonction du nombre de gènes *Rht* présents dans le génome. L'analyse quantitative des acides gras par chromatographie en phase gazeuse a mis en évidence des variations importantes des proportions des divers acides gras dans les lignées étudiées. La principale réponse à la présence des gènes a été trouvée au niveau des acides linoléique (18 : 2) et linolénique (18 : 3). Cette réponse se manifeste par un effet additif des gènes *Rht1* et *Rht2* se traduisant par une diminution du pourcentage en 18 : 2 corrélée à une augmentation du pourcentage en 18 : 3. Cet effet est très net pour les lignées dérivées de « Centana », beaucoup moins pour les lignées dérivées de « Burt ». Toutefois, l'influence des gènes *Rht* sur la croissance, bien que similaire pour les deux matériels quant à la hauteur finale des tiges en conditions de champ s'exprime complètement au stade de plantules étiolées sur le matériel dérivé de « Centana », mais seulement partiellement sur le matériel dérivé de « Burt » (10 p. 100 de réduction de hauteur par gène *Rht* au lieu de 30 p. 100).

L'insaturation totale des acides gras croît en fonction du nombre de gènes *Rht* présents dans le génome. De plus, une expérience sur liposomes a montré une perméabilité aux ions K^+ augmentée pour les liposomes préparés à partir de plantules C_{20} (*Rht1*) et très augmentée pour les liposomes préparés à partir des plantules C_{10} (*Rht1* + *Rht2*), les liposomes préparés à partir des plantules C_{30} (*aRht*) servant de référence.

Ces résultats montrent l'influence des gènes *Rht1* et *Rht2* sur la composition lipidique de plantules étiolées de blé de six jours; ils conduisent à penser que ces gènes pourraient avoir une influence sur les propriétés de perméabilité passive des membranes biologiques de ces plantules, et que cette influence participerait à la diminution du taux de la croissance subapicale.

Introduction

Dans les programmes de sélection du Blé, les gènes homéologues *Rht1* et *Rht2* sont largement utilisés pour leur action « nanifiante ». Le système *Rht* comporte les gènes *Rht1* et *Rht2* recueillis chez la variété « Norin 10 » (ALLAN et VOGEL, 1968) mais aussi le gène *Rht3* allélique de *Rht1*. Le gène *Rht3* particulièrement puissant est épistatique de *Rht1* et *Rht2*; ceux-ci ont des actions comparables et additives. Au point de vue agronomique ces gènes ne suscitent pas seulement une réduction de la hauteur des tiges (résistance à la verse) mais aussi des augmentations plus circonstanciées du peuplement en épis ainsi que de la fertilité des épillets. Toutefois, on observe constamment un effet négatif caractérisé par un fléchissement variable du poids de 1 000 grains.

L'action nanifiante qui affecte l'ensemble des feuilles et des entrenœuds mais non les organes de l'épi, porte essentiellement sur le taux des divisions cellulaires impliquées dans la croissance subapicale (SINGH et TRIPATHI, 1978).

Les gènes *Rht* suscitent par ailleurs des réponses très particulières à des traitements par l'acide gibbérellique. Chez les génotypes *Rht* ces traitements stimulent le tallage herbacé (GALE et MARSHALL, 1975), alors qu'ils sont pratiquement inefficaces sur la croissance subapicale (ibid. 1973). Chez les génotypes *aRht* (dépourvus de gènes *Rht*) les traitements gibbérelliques minimisent au contraire le tallage herbacé, tandis qu'ils stimulent la croissance subapicale. Ce comportement particulier s'accompagne de fortes teneurs en gibbérellines endogènes (coef. 2 à 5 par rapport aux génotypes *aRht*). Néanmoins des actions primaires des gibbérellines ne sont pas saturées puisque les génotypes *Rht* réagissent à l'acide gibbérellique sur le plan du tallage herbacé.

Dans les caryopses d'orge et de blé de variétés de « hauteur normale », les cellules de la couche à aleurone réagissent rapidement aux gibbérellines produites par l'embryon, ou à l'acide gibbérellique du milieu d'incubation dans le cas de fragments de grains dépourvus d'embryons (JONES, 1973).

Parmi ces réponses, l'activation spécifique d'enzymes membranaires impliquées dans la synthèse des phospholipides (JOHNSON et KENDE, 1971; VARNER et BEN TAL, 1974) caractérise une action primaire de l'acide gibbérellique dirigée sur les emplacements du réticulum endoplasmique où sont localisées ces enzymes (TZA-GOLOFF, 1975; LODISH et ROTHMANN, 1979). Les déclenchements simultanés d'une synthèse activée de rRNA et de la synthèse de la classe de mRNA spécifique des hydrolases, caractérisent une autre voie d'action des gibbérellines dirigée sur la membrane nucléaire (dérépression spécifique de certains gènes).

Dans le cas des cellules à aleurone mises en présence d'acide gibbérellique, ces actions assurent un large déploiement du réticulum endoplasmique (RE) jusqu'aux abords du plasmalemm, mais aussi l'accumulation sur les emplacements en expansion du RE de polyribosomes orientés vers la synthèse des hydrolases (EVINS, 1971; EVINS et VARNER, 1972; JONES, 1973). La sécrétion des hydrolases procède d'une fragmentation du RE à proximité immédiate de la membrane plasmique et de la fusion des vésicules ainsi produites avec cette membrane (VIGIL et RUDDAT, 1973). L'induction gibbérellique porte ainsi à la fois sur la synthèse et sur la sécrétion des hydrolases.

Appliqué à des plantules entières, l'acide gibbérellique assure un développement des activités hydrolytiques corrélé à une stimulation de la croissance (JONES, 1973). Le CCC suscite des réponses inverses en bloquant la synthèse des

gibbérellines, mais stimule par contre la synthèse des peroxydases (GASPAR et LACOPPE, 1968) : la promotion gibbérannique de la synthèse des hydrolases s'exerce apparemment au détriment de la synthèse d'autres catégories d'enzymes au niveau du RE.

Dans le cas de la lignée naine MIN-*Rht*3, partenaire isogénique de la variété « Ministre », l'induction gibbérannique de la synthèse d' α amylase sur grains en germination est pratiquement effacée, avec pour conséquence des teneurs particulièrement faibles des grains en α amylase (GALE et MARSHALL, 1975). Par des transferts réciproques « albumens — embryons », ces auteurs montrent que la synthèse des gibbérellines est aussi effective dans les embryons des deux génotypes; ceux-ci ne diffèrent que par les réponses de l'endosperme. Ceci implique que les fortes teneurs en gibbérellines du génotype *Rht*3 ne mettent pas en cause la synthèse des gibbérellines mais leur inactivation. Toutefois, si le gène *Rht*3 supprime pratiquement toute promotion gibbérannique de la synthèse des hydrolases, les gènes *Rht*1 et *Rht*2 seuls ou en association ne font que limiter cette fonction. GALE et MARSHALL (1974) observent ainsi que les quantités d' α amylase produites en 24 h par des grains en germination de la lignée naine « Norin 10 » $\times$ « Brevor 14 » (double homozygote *Rht*1/*Rht*1 — *Rht*2/*Rht*2) augmentent en fonction de la concentration d'acide gibbérannique dans le milieu, jusqu'à atteindre la même limite de saturation que celle du témoin *aRht* (variété « Ministre »). Néanmoins, les quantités d' α amylase recueillies en l'absence d'acide gibbérannique, ou pour des concentrations sous optimales d'acide gibbérannique, sont moindres pour la lignée naine, tandis que la concentration saturante d'acide gibbérannique est déplacée de 10^{-6} M (Ministre) à 10^{-4} M.

Les gènes Rht1 et Rht2 déterminent donc bien une déficience de la fonction gibbérannique d'induction de la synthèse des hydrolases. Cette déficience est quasi absolue dans le cas du génotype *Rht*3, elle est seulement partielle pour les génotypes *Rht*1 ou *Rht*2, ou *Rht*1—*Rht*2, et de ce fait en partie corrigée *in vivo* par les fortes teneurs en gibbérellines. Ces aspects sont confirmés par FICK et QUALSET (1975).

Sur un matériel comportant plusieurs génotypes *Rht* et leurs diverses F_1 , SINGHAL *et al.* (1979) observent une corrélation négative entre la hauteur finale des plantes et l'activité peroxydasique spécifique extraite des coléoptiles ($\rho^2 = 0,60$) La déficience quant à l'induction gibbérannique des activités hydrolytiques s'accompagne ainsi d'une promotion de la synthèse des peroxydases, enzymes également produites au niveau du RE mais non sous contrôle direct des gibbérellines.

Ces modifications variées de l'équipement enzymatique topologiquement « externe » sont susceptibles de retentir sur l'inactivation des gibbérellines, mais aussi de participer plus ou moins à tel ou tel des nombreux aspects du comportement physiologique ou agronomique affectées par les gènes *Rht*. Elles apparaissent cependant comme trop variables pour expliquer directement l'action nanifiante des gènes *Rht*, étroitement indexée à la dose de ces gènes.

L'action nanifiante des gènes *Rht* localisée sur la croissance subapicale, s'accompagne d'une certaine stabilisation de cette croissance. Celle-ci ne réagit plus à des traitements par l'acide gibbérannique, comme si cet effet des gibbérellines était supprimé ou saturé par les fortes concentrations en gibbérellines.

Ceci conduit à concevoir que des propriétés cellulaires globales, qui modulent la croissance subapicale en contrôlant des interactions essentielles entre territoires contigus, sont indirectement conditionnées par des effets plus primaires des gènes *Rht*.

Compte-tenu du rôle inducteur des gibbérellines dans la synthèse des membranes cytoplasmiques, l'action nanifiante pourrait participer de modifications

dans le métabolisme de ces membranes, affectant à la fois leur composition et certaines de leurs propriétés essentielles (perméabilité).

Dans cette optique, il a paru intéressant d'étudier les rapports pouvant exister entre la présence des gènes *Rht* et la composition lipidique de plantules de blé à un stade déterminé de croissance. Les analyses ont été effectuées sur plantules étiolées pour minimiser la participation des membranes non cytoplasmiques.

Matériel et Méthodes

1. — Matériel végétal

Trois lignées dérivées du blé de printemps « Centana » ont été utilisées. Les gènes *Rht1* et *Rht2* proviennent de la lignée (« Norin 10 » × « Brevor 14 ») et ont été introduits par cinq rétrocroisements. Ces lignées sont décrites dans la communication de Mac NEAL et BERG (1975). Les lignées identifiées par les numéros CI 17 401, 17 398 et 17 306 ont été retenues pour l'expérimentation et désignées respectivement par C10, C20 et C30.

Trois lignées dérivées du blé de type hiver « Burt » ont aussi été utilisées dans certaines expériences. Ces lignées sont décrites dans la communication de ALAN et PRITCHETT (1975). Elles portent les numéros CI 17 320, 17 324 et 17 332 et ont été désignées par B10, B20 et B30 par analogie avec les lignées dérivées de « Centana ».

Les semences ont été déposées sur ouate de cellulose imbibée d'eau distillée et placées à l'étuve à 20 °C à l'obscurité. Au bout de 6 jours, les plantules sont prélevées une par une par section à la base du coléoptile. Les plantules sont mesurées et pesées, puis on procède à l'extraction des lipides.

Le tableau 1 regroupe les caractéristiques des lignées utilisées. La longueur moyenne des plantules a été calculée sur 100 plantules de chaque lignée. La hauteur des plantes indiquées dans ce tableau a été obtenue en mesurant la hauteur finale des plantes adultes cultivées en champ.

2. — Analyse des lipides

a) L'extraction des lipides a été effectuée par la méthode de FOLCH modifiée (FOLCH *et al.* 1957). Les plantules sont broyées en présence d'un mélange chloroforme-méthanol 2/1. Le rapport de broyage est de 10 (V/P). Après filtration sur hyflo-supercell le résidu est broyé à nouveau en présence du même volume de mélange chloroforme-méthanol. Les deux filtrats sont mélangés et mis en présence de 0,2 volume d'une solution de NaCl à 7,3 p. 1000. Après agitation et décantation, la phase chloroformique est filtrée sur Na₂SO₄ anhydre puis concentrée à sec. L'extrait lipidique sec est pesé puis repris dans un mélange chloroforme-méthanol, 2/1.

b) La séparation des lipides totaux a été effectuée par chromatographie à une dimension sur couche mince de gel de silice G60 de 250 µ d'épaisseur (MERCK). Le dépôt effectué est d'environ 50 µg par un volume maximum de 10 µl.

Le solvant de migration est un mélange hexane, éther éthylique, méthanol, acide acétique 90 : 30 : 3 : 2.

TABLEAU I

Caractéristiques des lignées utilisées. Les gènes *Rht1* et *Rht2* proviennent de « Norin 10 » × « Breavor 14 ». Ils ont été introduits dans le génome de « Centana » par 5 rétrocroisements et dans le génome de « Burt » par 6 rétrocroisements.

Lignées	C10	C20	C30	« Centana »	
Gènes de nanisme	<i>Rht1, Rht2</i>	<i>Rht1</i>	<i>aRht</i>		
Haut. finale en cm d'après Mac NEAL et BERG	61	81	107		
Haut. finale en cm obtenue à Dijon (*)	75	105	140		135
Haut. moyenne en cm des plantules étio- lées de 6 j (coléoptiles)	2,25	4,55	6,69		

Lignées	B10	B20	B30	« Burt »	« Norin10 » × « B 14 »
Gènes de nanisme	<i>Rht1, Rht2</i>	<i>Rht2</i>	<i>aRht</i>		
Haut. finale en cm d'après ALAN et PRITCHET	37	55	80	85	35
Haut. finale en cm obtenue à Dijon (*)	55	85	120	120	65
Haut. moyenne en cm des plantules étio- lées de 6 j (coléoptiles)	6,34	7,72	8,08	8,71	3,62

(+) Ces hauteurs ont été obtenues en champ à la Station d'Amélioration des Plantes du Centre de Recherches Agronomiques de Dijon.

Les chromatogrammes ont été révélés soit à l'aide de vapeurs d'iode, soit à l'aide du réactif sulfochromique obtenu en dissolvant 1,2 g de $K_2Cr_2O_7$ dans 200 ml d' H_2SO_4 à 55 p. 100. Cette dernière révélation se fait par chauffage à 180 °C pendant 15 mn environ.

c) La séparation des phospholipides a été effectuée

— sur couche de gel de silice G60 MERCK. Le développement a été obtenu par un mélange chloroforme, méthanol, eau à 65 : 25 : 4, en une dimension (LEPAGE, 1963).

— sur nanoplaques à hautes performances, de gel de silice G60 MERCK.

La chromatographie a été effectuée en deux dimensions. Le solvant de 1^{ère} dimension est un mélange chloroforme, méthanol, eau 65 : 25 : 4. Le solvant de seconde dimension est un mélange chloroforme, acétone, méthanol, acide acétique, eau 50 : 20 : 10 : 10 : 5.

Les chromatogrammes ont été révélés à l'aide des vapeurs d'iode ou d'un réactif spécifique des phospholipides (DITTMER, 1964).

Les phospholipides ont été identifiés grâce à la comparaison des *R_f* avec ceux de standards (SIGMA) chromatographiés dans les mêmes conditions (LEPAGE, 1963).

d) L'analyse quantitative des phospholipides a été effectuée par deux méthodes : dosage du phosphore par la méthode de BARTLETT (1959) après grattage des taches identifiées et dilution du gel gratté dans un ml d'eau distillée, et dosage au densimètre après révélation par le réactif sulfochromique.

3. — Analyse des acides gras

La méthode utilisée est dérivée de la méthode de METCALFE *et al.* (1966).

L'analyse des acides gras a été effectuée à partir des extraits lipidiques totaux par chromatographie en phase gazeuse (GLC). Les échantillons ont été méthylés par un réactif au trifluorure de bore (BF₃) à raison de 5 ml de réactif pour 100 mg de lipides à métyler. Ce réactif est constitué d'une solution de BF₃ à 14 p. 100 dans le méthanol. On ajoute 10 mg d'hydroquinone pour 100 ml. Cette solution est mélangée à du benzène dans un rapport 7 : 3 (V/V). La méthylation a été effectuée pendant 1 h 30 à 95 °C. dans des flacons étanches. Les esters méthyliques ont ensuite été repris dans de l'hexane, lavés à l'eau, puis concentrés à sec.

L'extrait sec a été repris dans un volume d'hexane calculé pour obtenir 1 µg d'esters méthyliques dans 1 µl que l'on injecte dans la colonne d'un chromatographe en phase gazeuse GIRDEL 3 000 FF 1E. La colonne mesure 3 m de longueur et 3 mm de diamètre. La phase stationnaire est constituée de gaz chrom Q — 100 Mesh greffé avec du BDS à 5 p. 100. La détection est effectuée par un détecteur à ionisation de flamme. Les acides gras ont été identifiés grâce à la comparaison de leur temps de rétention avec ceux d'un mélange standard d'acides gras connus (MERCK). L'aire des pics a été calculée par intégrateur HP 3380 S.

4. — Liposomes

L'extrait de FOLCH est purifié sur colonne de gel de silice G60. On obtient ainsi les lipides polaires; 50 mg de lipides sont mélangés à 2 ml de ferricyanure de potassium. Le mélange est agité pendant 1 mn à l'agitateur Vortex, puis soumis aux ultrasons pendant 1 h à 0 °C. La suspension est centrifugée ensuite conformément à la méthode de BARENHOLZ *et al.* (1977).

Après centrifugation, on obtient deux phases distinctes dans le surnageant. Chaque phase est prélevée et passée sur une colonne d'ultrogel. On obtient ainsi séparément des liposomes « multilamellaires » et des liposomes « monolamellaires ».

Un montage de deux pHmètres sur une même électrode de référence, l'un des pHmètre étant relié à une électrode de mesure pH, l'autre à une électrode sélective des ions K⁺, permet de contrôler simultanément le pH et la concentration en ions K⁺ dans le milieu réactionnel. Il est ainsi possible de suivre la sortie des ions K⁺ des liposomes. A n'importe quel moment, il est possible d'ajouter dans le milieu du Neburon qui a la propriété d'augmenter la perméabilité membranaire et accélère ainsi la sortie des ions K⁺.

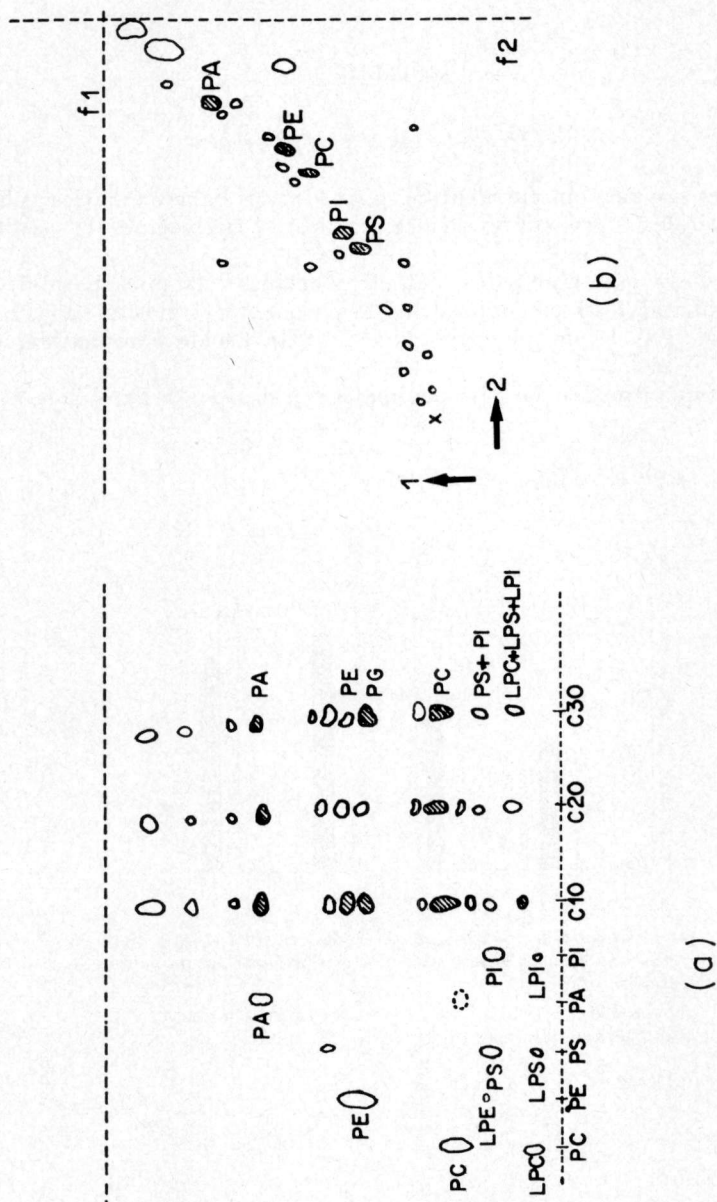


FIG. 1. — Séparation des phospholipides

a) Chromatographie des phospholipides sur couches minces Merck (20×20 gel de silice G60 à 250μ d'épaisseur). Le solvant de migration est un mélange de chloroforme, méthanol, eau 65 : 25 : 4. On a pu identifier LPC : lysophosphatyl choline, PC : phosphatidyl choline, PE : phosphatidyl éthanolamine, PA : acide phosphatique, PG : phosphatidyl glycérol.

b) Essai des nanoplaques à hautes performances Merck (HP TLC 10×10 cm de gel de silice^a (G60).

La chromatographie se fait en double dimension. Le solvant de première dimension est un mélange de chloroforme - méthanol - eau 65 : 25 : 4, le solvant de deuxième dimension est un mélange chloroforme, acétone, méthanol, acide acétique, eau 50 : 20 : 10 : 5. la phosphatidyl serine (PS) et le phosphatidyl inositol (PI) sont bien séparés.

Résultats

1. — Lipides totaux et phospholipides

Les lipides suivants ont été identifiés pour les trois lignées étudiées : phospholipides, diglycérides, stérols libres, acides gras libres, triglycérides et stérols estérifiés.

Dans la classe phospholipides, ont été identifiés : la phosphatidyl choline (PC), la phosphatidyl éthanolamine (PE), le phosphatidyl inositol (PI), la phosphatidyl sérine (PS), le phosphatidyl glycérol (PG), l'acide phosphatidique (PA) (fig. 1).

L'analyse quantitative des phospholipides par dosage du phosphore a permis

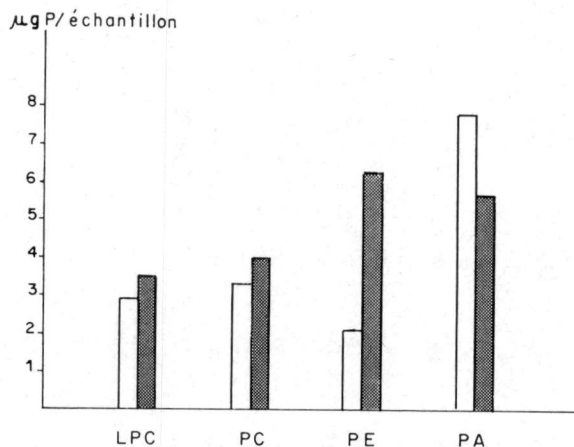


FIG. 2. — Dosage des phospholipides par la méthode de BARTLETT (1959) à partir des taches isolées par chromatographie sur couches minces. La figure représente la moyenne de cinq dosages sur chromatographies différentes.

LPC = lyso phosphatidyl choline, PC = phosphatidyl choline,
PE = phosphatidyl éthanolamine, PA = acide phosphatidique.

□ C₁₀ (Rht₁, Rht₂)

▨ C₃₀ (— , —)

de mettre en évidence une diminution importante de la quantité de phosphatidyl éthanolamine dans la lignée C 10 présentant dans son génome les gènes *Rht1* et *Rht2*, (fig. 2). La variation apparente de la quantité d'acide phosphatidique semblait être un artefact dû à la méthode d'extraction, la présence de phospholipases dans l'extrait brut provoquant une lyse des phospholipides.

C'est pourquoi dans les dosages ultérieurs une inhibition de ces phospholipases a été effectuée par passage des plantules, 1 mn, dans l'eau distillée bouillante.

La figure 3 montre les résultats obtenus, d'une part, sans inactivation, d'autre part, après inactivation des phospholipases.

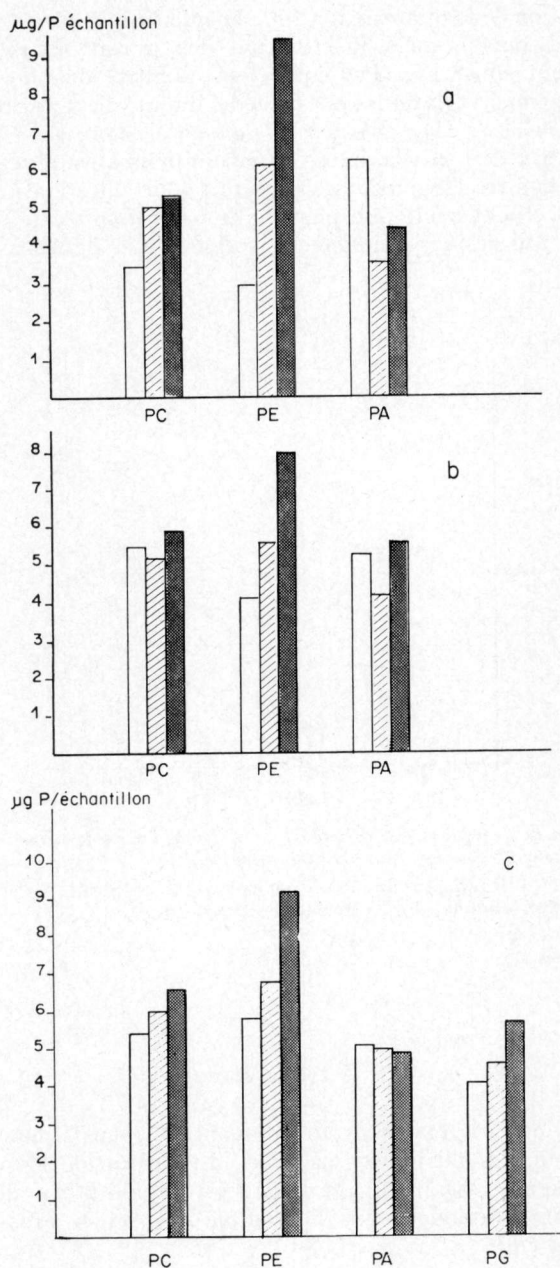


FIG. 3. — Dosage des phospholipides

a) par la méthode de BARTLETT sans inactivation préalable des phospholipases

b) par la méthode de BARTLETT après inactivation des phospholipases

c) par densitométrie après inactivation des phospholipases

PC = phosphatidyl choline, PE = phosphatidyl éthanolamine

PG = phosphatidyl glycérol, PA = acide phosphatidique

□ C10 (*Rht* 1 + *Rht* 2) ▨ C20(*Rht* 1), — C30 (—, —)

L'augmentation de la quantité d'acide phosphatidique observée précédemment était un artéfact puisqu'après inactivation des phospholipases cette quantité reste pratiquement constante. Par contre, la quantité de phosphatidyl éthanolamine suit les mêmes variations que précédemment, c'est-à-dire qu'elle *diminue en fonction du nombre de gènes Rht présents dans le génome des plantules analysées*. Le phosphatidyl glycérol suit la même variation mais à un niveau plus faible.

La figure 4 montre l'évolution des quantités de phosphatidyl éthanolamine, phosphatidyl glycérol et acide phosphatidique par rapport à la quantité de phosphatidyl choline qui reste pratiquement stable d'une lignée à l'autre.

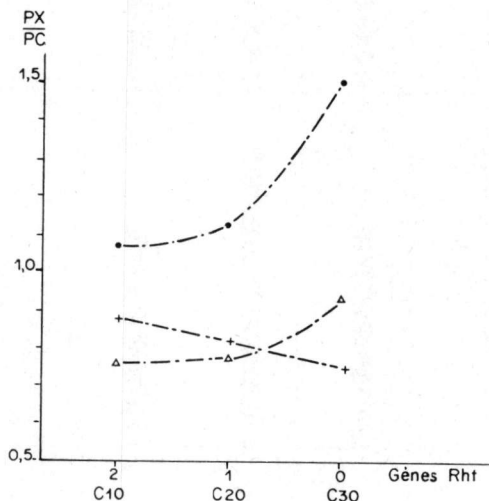


FIG. 4. — Évolution des rapports des différents phospholipides en fonction du nombre de gènes Rht présents dans le génome des plantules analysées.

PE = phosphatidyl éthanolamine, PG = phosphatidyl glycérol

PC = phosphatidyl choline, PA = acide phosphatidique

$$\bullet \quad \frac{PE}{PC} \quad \Delta \quad \frac{PG}{PC} \quad + \quad \frac{PA}{PC}$$

2. — Acides gras

Les résultats ont été exprimés en pourcentage relatifs des différents acides gras. Le DBI (double bond index) ou indice d'insaturation globale a été calculé pour toutes les lignées étudiées. Cet indice est représentatif du nombre relatif de doubles liaisons contenues dans l'ensemble des acides gras de l'échantillon (PEOPLES *et al.*, 1978).

$$DBI = \frac{\sum (\% \text{ de chaque acide gras} \times n \text{ doubles liaisons correspondantes})}{100}$$

Les acides gras suivants ont été identifiés : acide myristique (14 : 0), acide palmitique (16 : 0), acide stéarique (18 : 0), acide oléique (18 : 1), acide linoléique (18 : 2) et acide linolénique (18 : 3). (tabl. 2).

TABLEAU 2

Dosage des acides gras dans les extraits lipidiques totaux des plantules des lignées dérivées de « Centana » par chromatographie en phase gazeuse : 14 : 0 acide myristique, 16 : 0 acide palmitique, 18 : 0 acide stéarique, 18 : 1 acide oléique, 18 : 2 acide linoléique, 18 : 3 acide linolénique.

Acides gras	Lignées	C10	C20	C30
14 : 0		0,23	0,17	0,46
16 : 0		12,62	13,07	16,28
18 : 0		0,18	0,33	0,20
18 : 1		2,07	2,50	2,90
18 : 2		41,63	45,50	50,73
18 : 3		43,00	37,54	28,89
Total		99,73	99,11	99,46
Saturés		13,03	13,57	16,94
Monosaturés		2,07	2,50	2,90
Polyinsaturés		84,63	83,04	79,62
DBI		2,13	2,06	1,91
Longueur moyenne des plantules en mm		22,50	45,50	66,90

La figure 5 met en évidence les différences observées en ce qui concerne les acides linoléique (18 : 2) et linolénique (18 : 3), c'est-à-dire :

- une diminution du pourcentage en 18 : 2 en fonction du nombre de gènes présents dans le génome,
- une augmentation corrélée du pourcentage en 18 : 3,
- une augmentation de l'indice d'insaturation globale (DBI) en fonction du nombre de gènes *Rht*.

L'analyse de variance effectuée sur les résultats indique que les différences observées entre les lignées sont significatives. De plus, elle met en évidence un effet additif des gènes *Rht1* et *Rht2* sur les déplacements corrélés des pourcentages en 18 : 2 et 18 : 3. La variation d'une classe d'acides gras rend compte de 80 p. 100 de la variation de l'autre classe (coefficient de détermination $r = 0,78$) (fig. 6).

Des mesures identiques ont été effectuées ensuite sur trois des lignées isogéniques dérivées du blé « Burt » de type hiver. Les lignées B10, B20, B30, sont homologues des lignées C10, C20 et C30 mais B20 porte le gène *Rht2* et non le gène *Rht1*. Les résultats obtenus montrent que l'incidence des gènes *Rht* sur la teneur en acide linolénique (18 : 3) est considérablement atténuée sur le matériel « Burt » et en particulier sur B10 (fig. 7a). Toutefois l'examen des figures 5b, 5c, 7b, 7c permet d'observer que pour les plantes adultes la réduction de hauteur

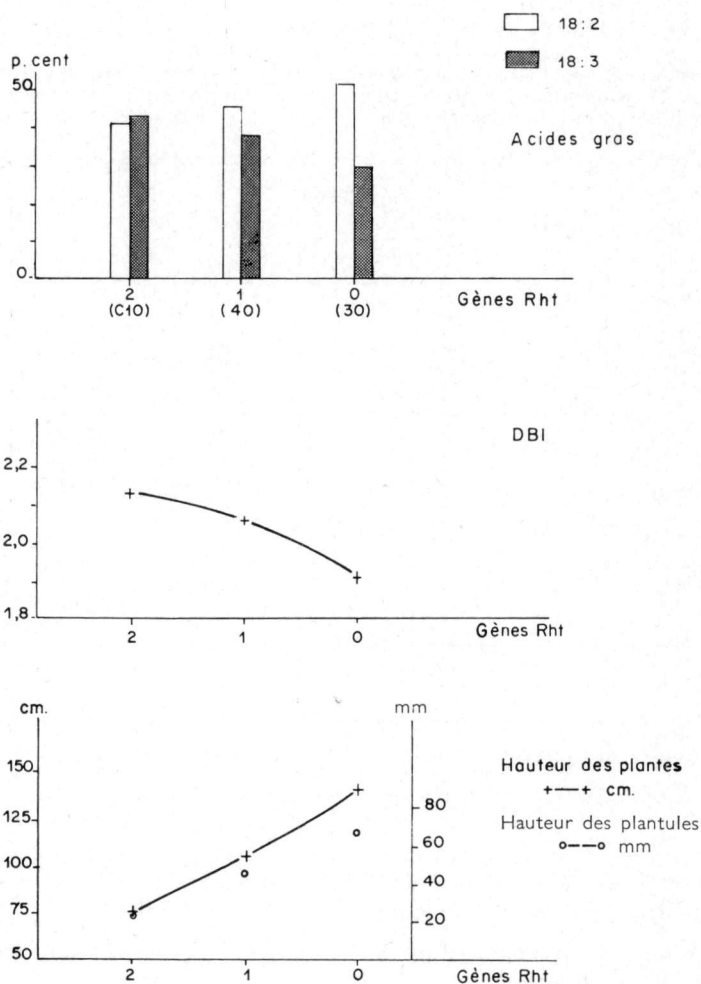


FIG. 5. — Effet de la présence des gènes *Rht1* et *Rht2* sur a) la teneur en acide linoléique (18 : 2) et en acide linolénique (18 : 3), b) l'insaturation totale des lipides (DBI) c) la hauteur des plantes et des plantules pour les lignées dérivées de « Centana ».

s'élève à environ 30 p. 100 par dose (état homozygote) de gènes *Rht* pour les matériels « Centana » et « Burt », par contre pour les plantules étiolées analysées, la diminution de hauteur indexée à une « dose » *Rht* n'est plus que d'environ 10 p. 100 pour le matériel « Burt » alors qu'elle se maintient au-dessus de 30 p. 100 pour le matériel « Centana ». De plus les lignées dérivées de « Centana » sont de type printemps alors que celles dérivées de « Burt » sont de type hiver. Les plantules analysées n'ont pas été vernalisées, or, DA SILVA *et al.* (1975) ont montré qu'il y avait augmentation de la quantité d'acide linolénique 18 : 3 au cours de la vernalisation.

Un essai d'incubation des plantules en présence d'acide gibbérélique $GA_3 10^{-5}M$ a montré une tendance à l'augmentation du pourcentage en 18 : 2 corrélée à

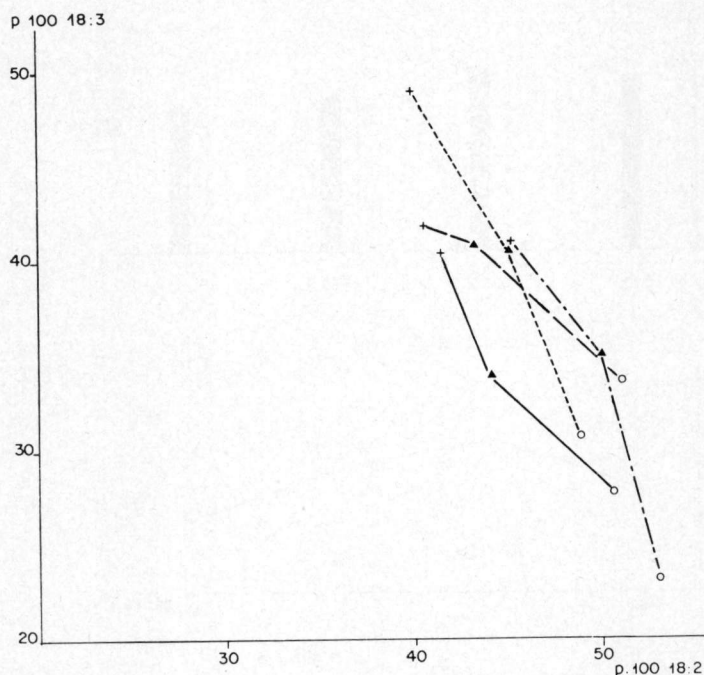


FIG. 6. — Variations inversées des deux classes d'acides gras (18 : 2 et 18 : 3) en fonction des gènes *Rht* présents dans chacune des lignées dérivées de « Centana ».

- | | |
|---|---------------------------------|
| ○ C ₃₀ (absence de gènes <i>Rht</i>) | — 1 ^e expérience |
| ▲ C ₂₀ (<i>Rht</i> ₁) | — 2 ^e expérience |
| + C ₁₀ (<i>Rht</i> ₁ + <i>Rht</i> ₂) | - - - 3 ^e expérience |
| | - - - 4 ^e expérience |

une diminution du pourcentage en 18 : 3; cet effet est surtout marqué sur la lignée Bro. Toutefois la variabilité des résultats obtenus est trop importante pour autoriser une conclusion nette à ce stade de l'expérimentation.

3. — Liposomes

L'obtention de liposomes « monolamellaires » est apparemment fortement perturbée par la présence de nombreux phénols dans les extraits. Les mesures de perméabilité aux ions K⁺ ont été effectuées sur des liposomes « multilamellaires » qui n'ont pu être obtenus intacts qu'une seule fois. Les résultats de cette unique expérience montrent une perméabilité aux ions K⁺ plus élevée pour les liposomes préparés à partir des lipides polaires extraits de la lignée C₁₀ (*Rht*₁ + *Rht*₂). Ces résultats demandent à être confirmés.

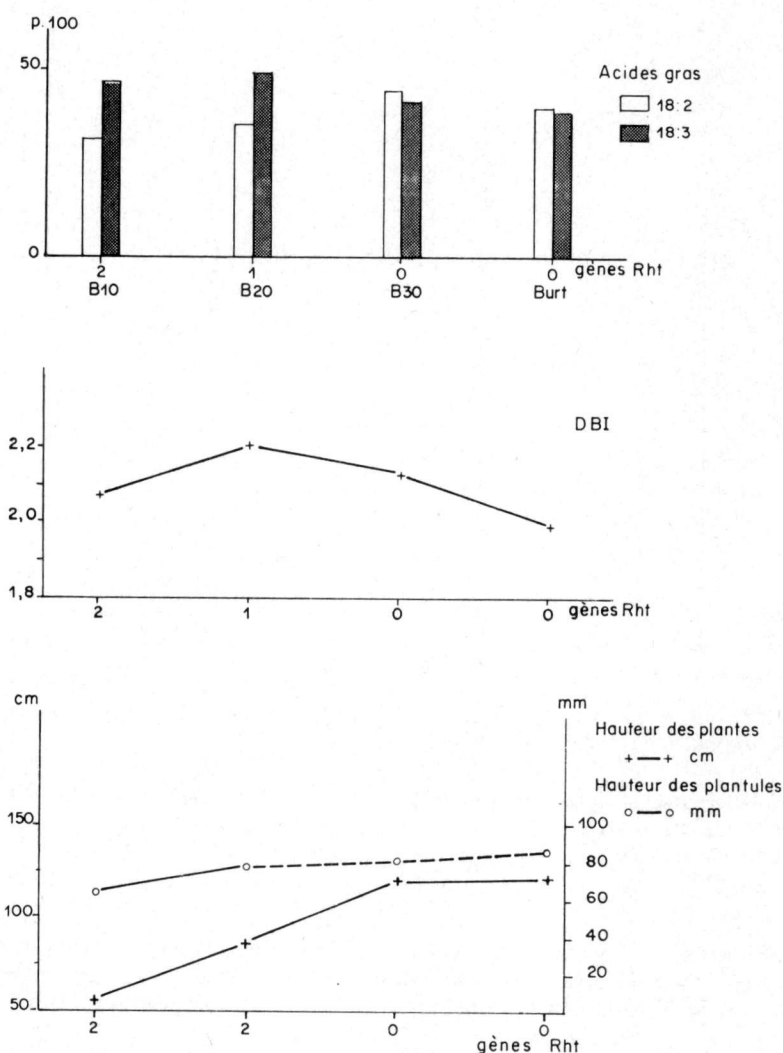


FIG. 7. — Effet de la présence des gènes *Rht1* et *Rht2* sur a) la teneur en acide linoléique (18:2) et en acide linolénique (18:3), b) l'insaturation globale (DBI) c) la hauteur des plantes et des plantules des lignées dérivées de « Burt ».

Discussion et conclusion

Ces analyses effectuées sur trois lignées isogéniques dérivées de « Centana » et trois lignées isogéniques dérivées de « Burt » ont permis de mettre en évidence une influence de la présence des gènes *Rht1* et *Rht2* sur la composition lipidique de plantules étioilées de blé.

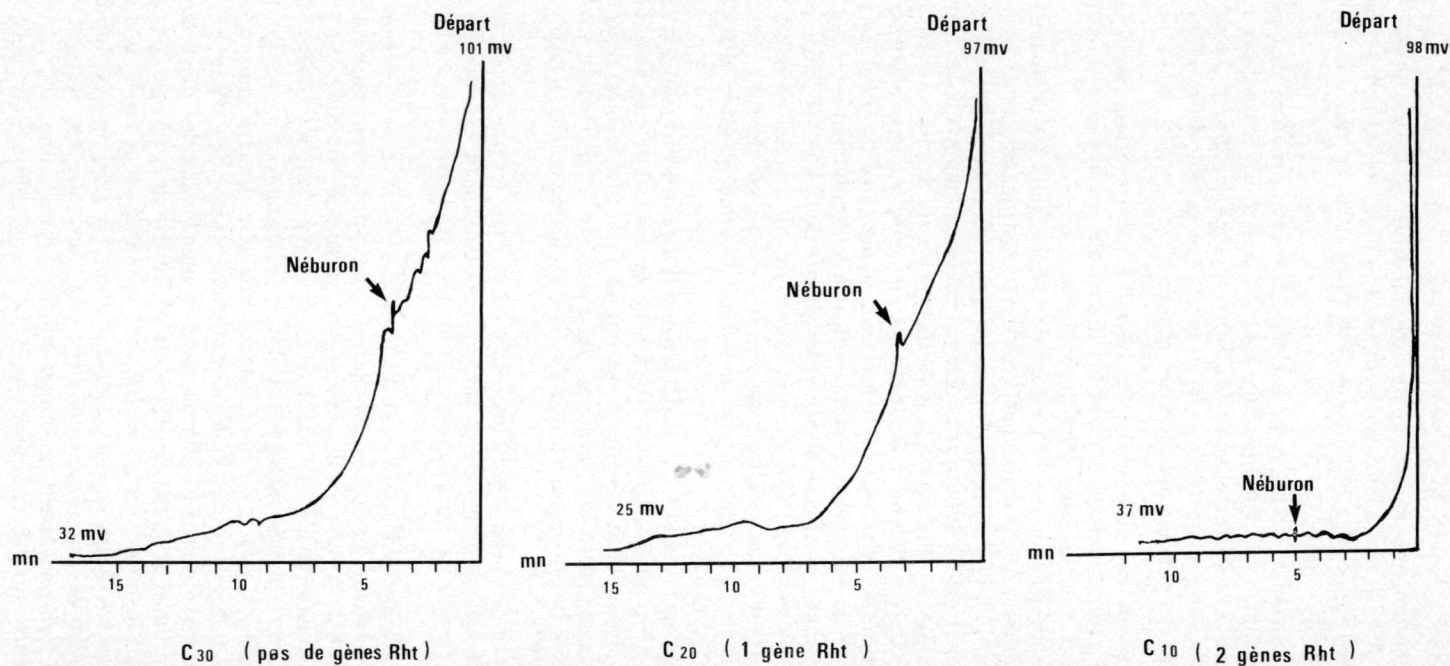


FIG. 8. — Mesure de la sortie des ions K^+ de vésicules « multilamellaires » préparées à partir des phospholipides extraits de plantules des lignées dérivées de « Centana » : C₁₀, C₂₀, et C₃₀.
Le Neburon accélère la sortie des ions K^+ .

Cette influence est visible à deux niveaux :

1) La composition en phospholipides est modifiée dans les lignées dérivées de « Centana » car une diminution de la quantité de phosphatidyl éthanolamine et de phosphatidyl glycérol a été mise en évidence dans la lignée la plus courte *Cro* (*Rht1* + *Rht2*).

2) La composition en acide gras est modifiée. La présence des gènes *Rht* entraîne une diminution du pourcentage en 18 : 2 corrélée à une augmentation du pourcentage en 18 : 3. Cet effet est additif et se répercute sur l'évolution de l'indice d'insaturation globale DBI. Celui-ci croît en fonction du nombre de gènes *Rht* présents dans le génome des lignées étudiées.

Ces résultats ont été obtenus en analysant la composition lipidique totale. Toutefois dans les plantules de 6 jours les lipides de réserve ont sans doute été déjà pratiquement tous utilisés (BERGFELD *et al.*, 1978).

Il est permis de penser que la plupart des phospholipides et des acides gras sont des constituants des membranes en cours d'édification.

La variation de l'insaturation des acides gras qui s'observe sur le matériel « Centana » est analogue à celle qui procède d'un abaissement de la température d'incubation. DE LA ROCHE *et al.* (1975) observent ainsi, pour quatre cultivars différents, un déclin de la teneur des extraits en acide linoléique (18 : 2) corrélé à une augmentation de la teneur en acide linoléique (18 : 3), chez des plantules parvenues à un même stade de croissance après une incubation à 2 °C au lieu de 24 °C. Ce changement qui affecte les diverses classes de lipides, résulte essentiellement de l'activité désaturase limitée par la tension interne en oxygène (HARRIS et JAMES, 1969). Il est vraisemblable que l'incidence des gènes *Rht* sur l'insaturation des acides gras s'exerce de même par la voie de la concentration d'équilibre de l'oxygène dans les tissus.

DE LA ROCHE *et al.* notent que le déplacement de l'insaturation par la température est similaire pour les divers cultivars et ne contribue pas aux différences considérables quant à l'état d'endurcissement acquis aux faibles températures. L'inhibition de la synthèse de l'acide linoléique par un herbicide (SAN 6706) n'a d'ailleurs pas d'incidence sur le processus d'endurcissement (DE LA ROCHE, 1979).

Les modifications observées quant à la composition en phospholipides caractérisent une influence des gènes *Rht* sur le renouvellement des membranes qui peut procéder pour partie de l'augmentation des concentrations d'équilibre des gibbérélines.

Ces modifications variées du métabolisme des membranes dépendent toutefois du génome associé aux gènes *Rht* puisqu'elles sont moins caractérisées sur les lignées dérivées de « Burt » que sur celles dérivées de « Centana ». Toutefois, on peut noter que dans le cas des plantules analysées, l'impact additif des gènes *Rht* sur la croissance est normal sur le matériel « Centana » puisqu'il correspond à une réduction de 30 p. 100 de la croissance par gène (état homozygote), alors qu'il n'est encore que très partiel pour le matériel « Burt » à ce stade. Sur plantes adultes en conditions de champ, l'impact est le même pour les deux matériels : la réduction de la hauteur finale des tiges est de l'ordre de 30 p. 100 par « gène ».

Les modifications dues aux gènes *Rht*, qui se manifestent ainsi au stade plantule sur le matériel « Centana » sont susceptibles d'augmenter la fluidité et la perméabilité passive des membranes (LEE, 1975). Les premiers tests de perméabilité aux ions K^+ effectués sur liposomes confirment ce point.

Cette incidence sur la composition et la perméabilité des membranes se

conçoit comme indirecte, c'est-à-dire comme la conséquence d'une intégration d'effets plus élémentaires. Elle est cependant susceptible d'affecter de nombreux aspects du comportement de la plante et plus particulièrement de participer à l'action nanifiante.

Reçu pour publication en juin 1979.

Summary

Effect of two genes Rht1 and Rht2 (reduction height genes) on lipid composition of etiolated wheat seedlings

Lipid extracts of six-day-old etiolated seedlings were analyzed for their contents in phospholipids and fatty acids. Three isogenic lines of « Centana » (spring wheat) and three isogenic lines of « Burt » (winter wheat) were examined.

These lines were designated as C10 and B10 (*Rht1* + *Rht2*), C20 (*Rht1*)1, B20 (*Rht2*), C30 and B30 (without *Rht1* and *Rht2*).

Separation and identification of phospholipids by thin layer chromatography and further quantitative analysis showed changes in major phospholipids, mainly phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE) phosphatidylglycerol (PG)1 phosphatidic acid (PA). The $\frac{PE}{PC}$ and $\frac{PG}{PC}$ ratios showed notable decrease in the C10 seedlings (*Rht1* + *Rht2*). Fatty acids analysis

by gas chromatography showed important fatty acid changes. The most important response to the two genes was observed on linoleic acid (18:2) and linolenic acid (18:3). The decrease of the percentage of linoleic acid was correlated with the increase of the percentage of linolenic acid. The total degree of insaturation (double-bond index) increases with the number of genes. This effect was shown to be additive in the lines from « Centana » but not in those of « Burt ». However the seedlings of « Centana » lines showed a reduction in height greater than that of « Burt » lines (30 p. 100 by gene *Rht* for « Centana » lines against 10 p. 100 for « Burt » lines, and 30 p. 100 for both materials in field conditions).

Furthermore a test with liposomes showed a K^+ permeability greater for the liposomes prepared with C20 (*Rht1*) plantlets and more greater for the liposomes prepared with C10 (*Rht1* + *Rht2*) plantlets.

These results show that *Rht1* and *Rht2* have an effect on the quantitative lipid content of six-day-old etiolated wheat seedlings. They also suggest that *Rht1* and *Rht2* could have an effect on the passive permeability of biological membranes and that this effect could be related to the decrease in the rate of subapical growth.

Références bibliographiques

- ALLAN R. E., VOGEL O. A., PETERSON J. C. J. R., 1968. Inheritance and differentiation of semidwarf culm length of Wheat. *Crop Sci.*, **8**, 701-704.
- ALLAN R. E., PRITCHETT J. A., 1975. Registration of 20 lines of wheat germplasm. *Crop Sci.*, **15**, 891-892.
- BARENHOLZ Y., GIBBES D., 1977. A simple method for the preparation of homogeneous phospholipid vesicles. *Biochemistry*, **16** (12), 2806-2810.
- BARTLETT G. R., 1959. Phosphorus assay in column chromatography. *J. biol. Chem.*, **234**, 466-468.
- BERGFELD R., HONG Y. N., KUHN T., SCHOPFER P., 1978. Formation of oleosomes (storage lipid bodies) during embryogenesis and their breakdown during seedling development in cotyledons of *Sinapis alba* L. *Planta*, **143**, 297-307.
- DE LA ROCHE I. A., POMEROY M. K., ANDREWS C. J., 1975. Changes in fatty acid composition in wheat cultivars on contrasting hardness. *Cryobiology*, **12**, 506-512.
- DE LA ROCHE I. A., 1979. Increase in linolenic acid is not a prerequisite for development of freezing tolerance in Wheat. *Plant Physiol.*, **63**, 5-8.

- DE SILVA N. S., WEINBERG P., KAKES M., DE LA ROCHE J. A., 1975. Comparative changes in hardness and lipid composition in two near isogenic lines of Wheat (spring and winter) grown at 2 °C and 24 °C. *Can J. Bot.*, **53** (17), 1889-1905.
- DIETMER J. D., 1964. Chapter «Separation of lipid-mixtures» in *Laboratory techniques and molecular biology: techniques of lipidology*. Morris KATES ed. by WOKK T. S. and WORK E., 437.
- EVINS W. H. and J. E. VARNER, 1971. Hormone controlled synthesis of endoplasmic reticulum in barley aleurone cells. *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A.*, **68**, 1631-1633.
- EVINS W. H. and VARNER J. E., 1972. Hormonal control of polyribosome formation in Barley aleurone layers. *Plant. Physiol.*, **49**, 348-352.
- FICK G. N., QUALSET C. O., 1975. Genetic control of endosperm amylase activity and gibberellic acid responses in standard-height and short-statured wheats. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, **72** (3), 892-895.
- FOLCH J., LEES M., SLOANE STANLEY G. H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. biol. Chem.*, **226**, 497-509.
- GALE M. D., MARSHALL G. A., 1973. Dwarf wheats and gibberellins. *Proc. 4th Intern. Wheat Genetics Symp.*, 513-519.
- GALE M. D., MARSHALL G. A., 1975. The nature and genetic control of gibberellin insensitivity in dwarf wheat grain. *Heredity*, **35** (1), 55-65.
- GASPAR T., LACOPPE J., 1968. The effect of CCC and AMO 1618 on growth, catalase, peroxydase and indoleacetic acid oxydase activity of young Barley seedlings. *Physiol. Plant.*, **1**, 1104-1109.
- HARRIS P., JAMES A. T., 1969. Effect of low temperature on fatty acid biosynthesis in seeds. *Biochem. Biophys. Acta*, **187**, 13-18.
- JOHNSON K. D., KENDE H., 1971. Hormonal control of lecithin synthesis in barley aleurone cells: regulation of the CDP-choline pathway by gibberellin. *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A.*, **68**, 11, 2674-2677.
- JONES R. L., 1971. Gibberellic acid enhanced release of β 1-3 glucanase from barley aleurone cells. *Plant. Physiol.*, **47**, 412-416.
- JONES R. L., 1973. Gibberellins: their physiological role. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **24**, 571-598.
- LEE A. G., 1975. Functional properties of biological membranes: a physical-chemical approach. *Prog. Biophys. molec. Biol.*, **29**, 1, 3-56.
- LEPAGE M., 1963. The separation and identification of plant phospholipids and glycolipids by two dimensions thin layer chromatography. *J. Chromatol.*, **13**, 99-103.
- LODISH H., ROTHMAN J., 1979. L'assemblage des membranes cellulaires *Pour la Science* (traduction française de *Sci. Amer.*), **17**, 22-40.
- METCALFE L. D., SCHMITZ A. A., PELKA J. R., 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Analyt. Chem.*, **38** (3), 514-515.
- MCNEAL F. H., BERG M. A., 1975. Registration of 11 germplasm lines of *Centa* hard red Spring Wheat. *Crop Sci.*, **15**, 892.
- PEOPLES T. R., NOCH D. W., SMITH S. C., 1978. Relationship between chloroplast membrane fatty acid composition and photosynthetic response to a chilling temperature in four Alfalfa cultivars. *Plant Physiol.*, **61** (3), 472-473.
- SINGH R. M., TRIPATHI D., 1973. Dwarfness in mexican wheat: possible control mechanism at cell cycle duration and mitotic index levels. *Ind. J. Hered.*, **1**, 45-52.
- SINGHAL N. C., MEHTA S. L., SINGH M. P., 1979. Peroxidase activities in relation to plant height and grain weight in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) *Theor. appl. Genet.*, **55**, 87-92.
- TZAGOLOFF A., 1975. Membrane biogenesis: *Mitochondria, chloroplasts and bacteria*. Edited by Alexander Tzagoloff, Plenum Press, 8.
- VARNER J. E., BEN TAL Y., 1974. An early response to gibberellic acid not requiring protein synthesis. *Plant Physiol.*, **54**, 813-816.
- VIGIL L. E., RUDDAT M., 1979. Effect of gibberellic acid and actinomycin on the formation and distribution of rough endoplasmic reticulum in barley aleurone cells. *Plant Physiol.*, **51**, 549-558.

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles séparées seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — le titre du mémoire ; il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — le nom des auteurs, précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — le nom des techniciens ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ; le nom de l'établissement, dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :

a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé*, en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats*, à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion et conclusion* ; f) *titre et résumé* en anglais ou destiné à être traduit en anglais comportant une analyse complète de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons... ; h) *références bibliographiques*.

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français très complet. Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc.), l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le(s) nom(s) de(s) auteur(s) suivi(s) des initiales du(des) prénom(s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) ; le titre du périodique en abrégé, selon la *World List of Scientific Periodicals*, ou le *Bulletin Signalétique du C.N.R.S.* ; le volume, la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur d'un chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d'« Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux. Il est demandé aux auteurs de bien vouloir fournir une traduction anglaise des titres et contenus de tableaux, figures, photographies, etc...

Le titre courant pour les hauts de pages devra être fourni en 40 signes au maximum.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés soit à l'état définitif soit à l'état de projets, leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I.N.R.A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : soit × 0,5, soit × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des *Annales* est : 12,5 × 19,5 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos : 9 × 12 ; 4 photos : 9 × 5,5 ; 6 photos : 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

Envoi du manuscrit : M. RIVES, I.N.R.A., 11, rue Jean-Nicot 75007 Paris, France. On demande trois exemplaires.

Correction des épreuves : les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction à M^{me} MANDON, Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes, C.N.R.A., 78000 Versailles.

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

PÉRIODIQUES

TARIF DES ABONNEMENTS 1980	France Prix T.T.C.	Étranger Prix Net	LE NUMÉRO	
			France Prix T.T.C.	Étranger Prix Net
ANNALES AGRONOMIQUES, 4 n° par an	312 F	345 F	110 F	110 F
ANNALES DE L'AMÉLIORATION DES PLANTES, 4 n° par an	312 F	345 F	110 F	110 F
ANNALES DE ZOOTECHNIE, 4 n° par an	312 F	345 F	110 F	110 F
ANNALES DES SCIENCES FORESTIÈRES, 4 n° par an	275 F	303 F	84 F	84 F
ANNALES DE RECHERCHES VÉTÉRINAIRES, 4 n° par an	312 F	345 F	110 F	110 F
ANNALES DE PHYTOPATHOLOGIE, 4 n° par an	312 F	345 F	110 F	110 F
ANNALES DE GÉNÉTIQUE ET DE SÉLECTION ANIMALE, 4 n° par an	312 F	345 F	110 F	110 F
ANNALES DE TECHNOLOGIE AGRICOLE, 4 n° par an	275 F	303 F	84 F	84 F
APIDOLOGIE	100 F	175 F (sauf RFA)	30 F	50 F (sauf RFA)
ANNALES DE BIOLOGIE ANIMALE, BIOCHIMIE, BIOPHYSIQUE, 6 n° par an (*)				
ANNALES DE ZOOLOGIE, ÉCOLOGIE ANIMALE, 4 n° par an				

* Les annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique deviennent : « Reproduction, Nutrition, Développement »
 ** Les annales de Zoologie, Écologie animale cessent avec le n° 4, volume 11, 1979.

Les articles publiés dans cette série paraîtront désormais dans les *« Ecologia, Applicata »* de la revue : *Acta Oecologica*.
 Pour ces 2 revues, s'adresser à : C.D.R. Gauthier-Villars. B.P. 119, 93104 MONTREUIL CEDEX. Tél. (1) 374-12-45.

DERNIERS OUVRAGES PARUS

Utilisation pour les ruminants des pâturages d'altitude et parcours méditerranéens. X ^e Journées du Grenier de Theix. 576 p., 1979.	110,00 F
La Forêt et la Ville. Essai sur la forêt dans l'environnement urbain et industriel. 252 p., 1979.	50,00 F
Alimentation des ruminants. Principes de la nutrition et de l'alimentation des ruminants. Besoins alimentaires des animaux et valeur nutritive des aliments. 600 p., 1978.	140,00 F
Introduction à la statistique en biologie par S. C. Pearce, traduction de J. P. Doazan. 260 p., 1978.	25,00 F
L'I.N.R.A., l'eau et la production agricole. 270 p., 1978.	50,00 F
Génétique et Amélioration de la Vigne. Symposium international sur l'amélioration de la vigne. Bordeaux, 14-18 juin 1977. 472 p., 1978.	230,00 F
Pays, Paysans, Paysages dans les Vosges du Sud, par le Groupe de Recherches I.N.R.A.-E.N.S.S.A.A. 192 p., 1978.	55,00 F
Flore illustrée des Phanérogames de Guadeloupe et de la Martinique, par J. Fournet. 1652 p., 1978.	300,00 F
Les Rongeurs de France, faunistique et biologie, par H. Le Louarn et M. C. Saint-Girons. 164 p., 1977.	80,00 F
La Vache laitière. IX ^e Journées du Grenier de Theix. 342 p., 1977.	60,00 F
Amélioration génétique des animaux de ferme. Application aux bovins (sous la direction de B. Vissac). 160 p., 1977.	35,00 F
Carte pédologique de la France à 1/1 000 000 par J. Dupuis.	96,00 F
Cartes pédologiques de France à 1/100 000. (Vichy, Perpignan, Angoulême, Brives, Dijon, Toulon, Moulins, Condom, Tonnerre, Privas, St-Dié, Lesparre).	96,00 F chacune
Le Pois. Étude génétique des caractères, classification, caractéristiques variétales portant sur les variétés inscrites au catalogue officiel français, par R. Cousin. 111 p. et 40 fiches, 1974.	168,50 F
Les arbres et arbrisseaux acclimatés en région méditerranéenne française. Catalogue commenté par P. Augé, P. Allemand, R. Hames. 144 p., 1973.	63,50 F

Les demandes d'abonnements et les commandes doivent être adressées au Service des Publications de l'Institut national de la Recherche agronomique, route de Saint-Cyr, 78000 Versailles.
 Règlement : par chèque bancaire à l'ordre du Régisseur des Publications de l'I.N.R.A., par virement postal à son compte courant : 9064-43 Paris, sans mentionner d'adresse, ou par bons U.N.E.S.C.O.
 Les demandes peuvent être souscrites également par l'intermédiaire des libraires dans les conditions habituelles.

TABLE DES MATIÈRES

Yvette DATTÉE, G. ANNOU, G. LEFORT, P. GUY, G. GENIER. — Stérilité mâle cytoplasmique chez la Luzerne : étude de la variabilité inter- et intradescendances de croisements entre mâles stériles et mainteneurs de diverses origines	1
G. FOUILLOUX. — Effectif et nombre de cycles de sélection à utiliser lors de l'emploi de la filiation unipare (single seed descent method) ou de l'haplométhode pour la création de variétés lignées « pures » à partir d'une F ₁	17
Y. LESPINASSE, Marie GODICHEAU. — Création et description d'une plante haploïde de Pommier (<i>Malus pumila</i> Mill.)	39
M. HÜHN. — Equilibria of populations with selection and mixed selfing and random mating - with some implications for plant breeding (Équilibres génétiques dans les populations allogames avec sélection et autofécondation partielle, avec quelques conséquences pour l'amélioration des plantes)	45
J.-J. GUILLAUMIN, M. BERNARD, M. ROUSSET, J.M. AÏACHE, J.P. FOUCHER. — Obtention d'ergot par inoculation d'un Blé mâle-stérile et d'un Triticale avec cinq souches de <i>Claviceps purpurea</i> (Fr.) Tul.	55
Y. BERTHEAU, V. GIANINAZZI-PEARSON, S. GIANINAZZI. — Développement et expression de l'association endomycorrhizienne chez le Blé : mise en évidence d'un effet variétal	67
A. BERBIGIER, J.B. DENIS, Catherine DERVIN. — Interaction variété-lieu : analyse du rendement d'orges de printemps	79
Lydie SUTY, A. VINCENT. — Influence de la présence des gènes <i>Rht1</i> et <i>Rht2</i> (Gènes de réduction de hauteur) sur la composition lipidique de plantules étiolées de Blé	95

CONTENTS

Yvette DATTÉE, G. ANNOU, G. LEFORT, P. GUY, G. GENIER. — Cytoplasmic male sterility in Lucerne : study of inter- and intra-progeny variability in crosses between male steriles and maintainers from different origins	1
G. FOUILLOUX. — Size of the population and number of breeding cycles to be used for the creation of « pure » line varieties from F ₁ , through Single Seed Descent and Haploid methods	17
Y. LESPINASSE, Marie GODICHEAU. — Obtention and description of one haploid Apple-tree (<i>Malus pumila</i> Mill.)	39
M. HÜHN. — Equilibria of populations with selection and mixed selfing and random mating - with some implications for plant breeding	45
J.-J. GUILLAUMIN, M. BERNARD, M. ROUSSET, J.M. AÏACHE, J.P. FOUCHER. — Ergot production by inoculation of male-sterile wheat and triticale with five strains of <i>Claviceps purpurea</i> (Fr.) Tul.	55
Y. BERTHEAU, V. GIANINAZZI-PEARSON, S. GIANINAZZI. — Development and expression of VA endomycorrhizas in wheat : evidence of a varietal effect	67
A. BERBIGIER, J.B. DENIS and Catherine DERVIN. — Variety-site interaction : spring barley yield analysis	79
Lydie SUTY, A. VINCENT. — Effect of two genes <i>Rht1</i> and <i>Rht2</i> (reduction height genes) on lipid composition of etiolated wheat seedlings	95

Les Annales de l'Amélioration des Plantes figurent dans Current Contents